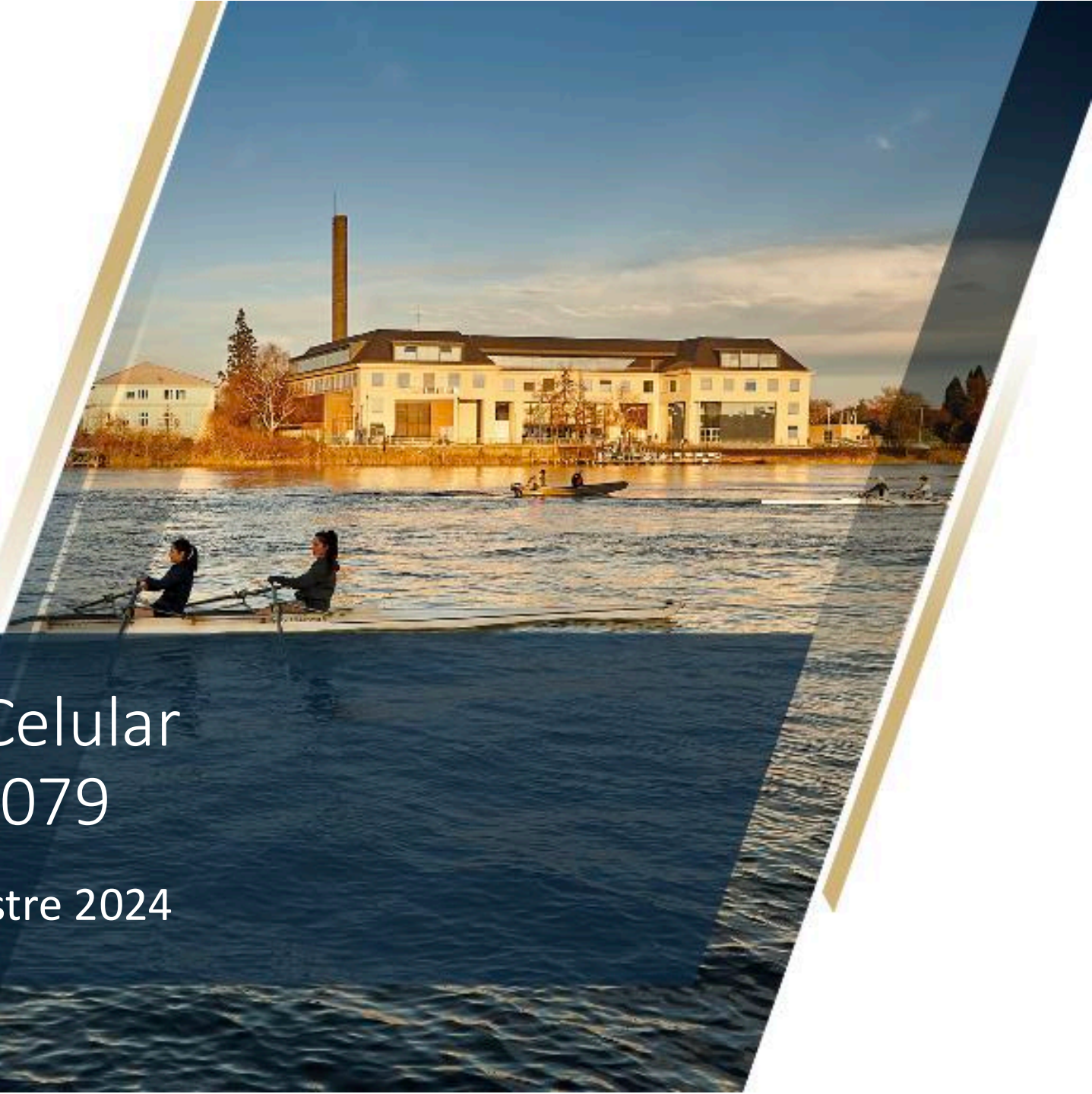
UNIVERSIDAD SAN SEBASTIAN

VOCACIÓN POR LA EXCELENCIA



Biología Celular
DBIO 1079

Primer semestre 2024

UNIVERSIDAD SAN SEBASTIAN
VOCACIÓN POR LA EXCELENCIA

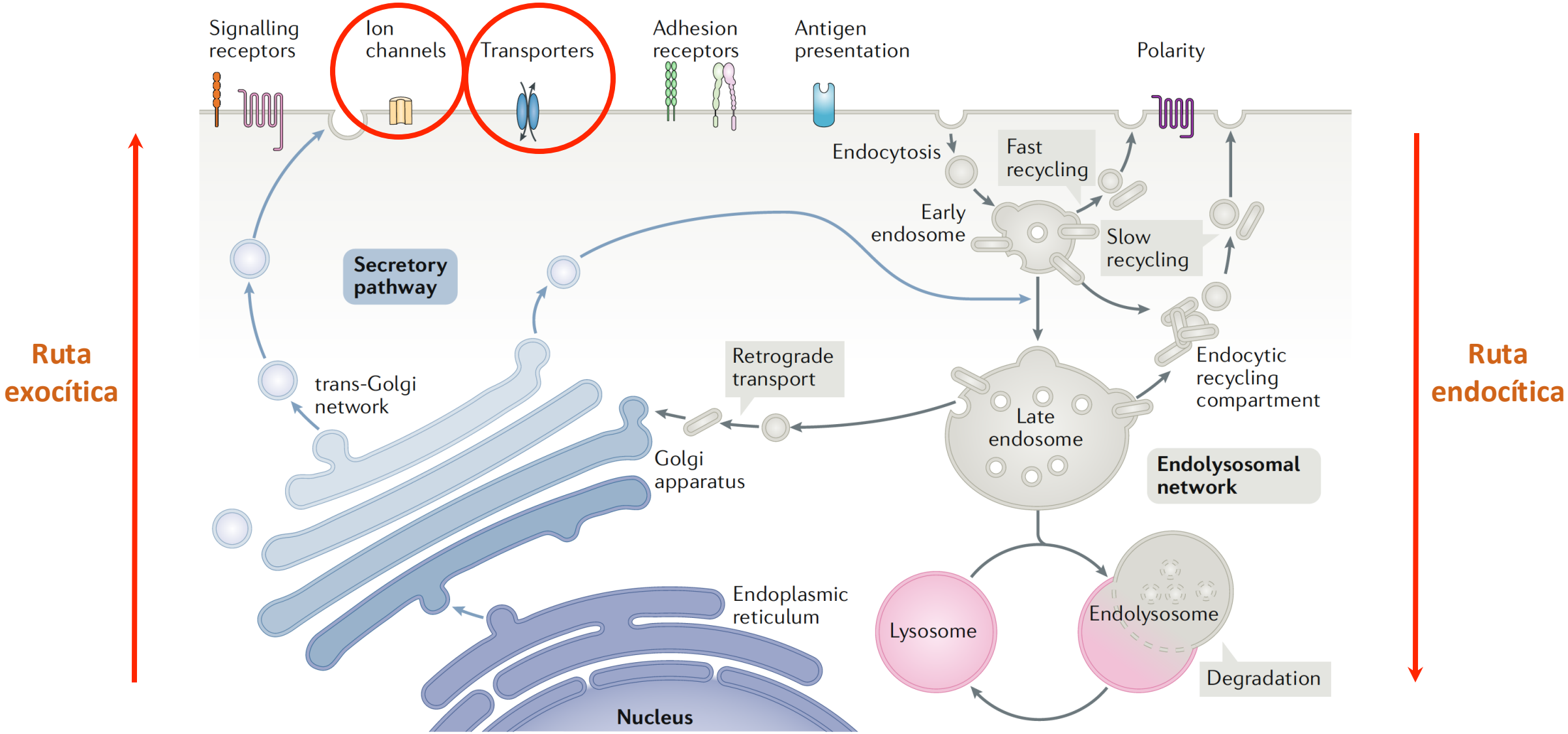
Unidad 2: Compartimentalización celular y tráfico intracelular

Sesión 1: Tráfico vesicular 1

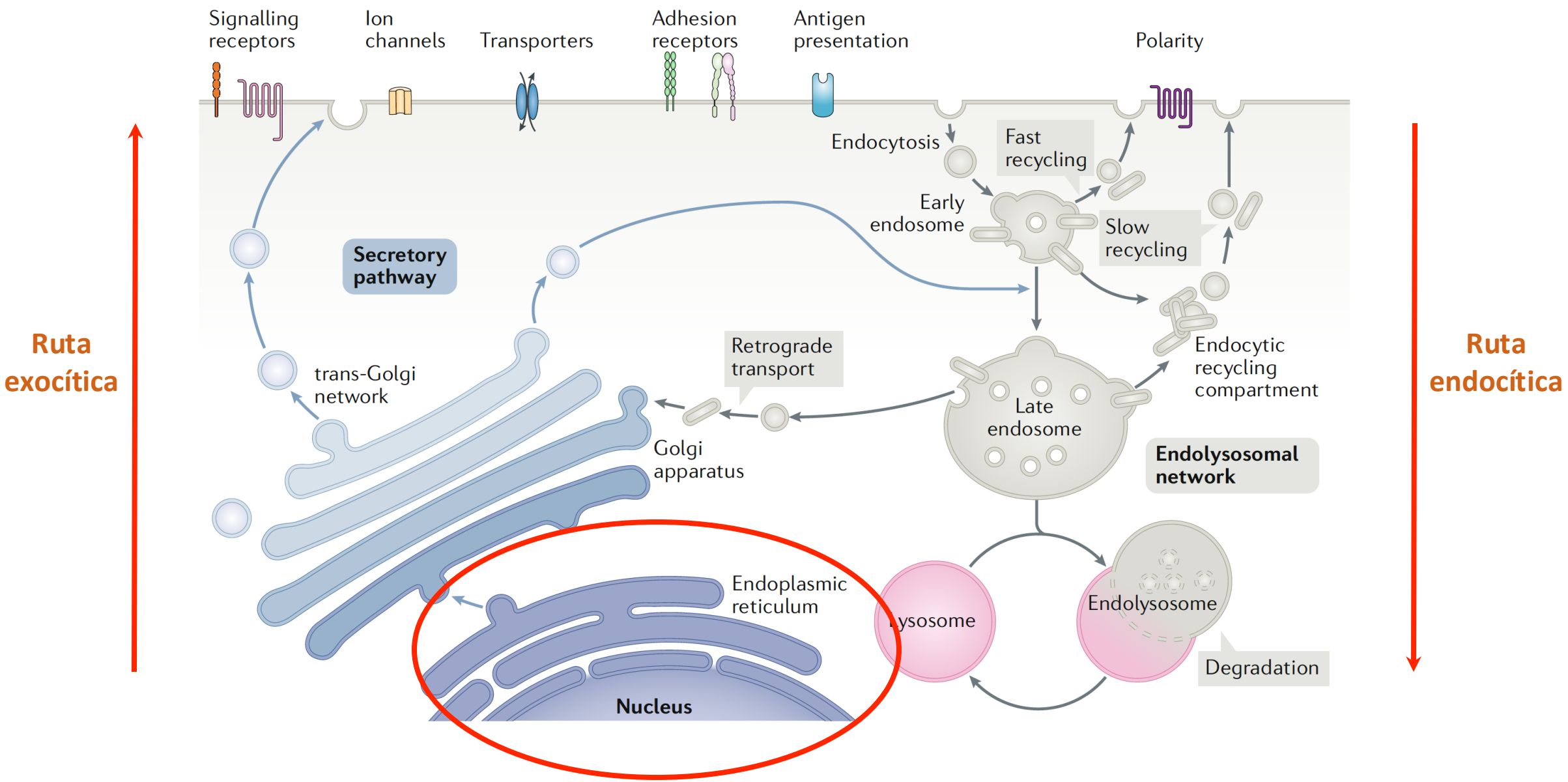
Estructura del retículo endoplásmico; translocación de proteínas en el retículo endoplásmico; mecanismos del transporte mediado por vesículas

Docente: Dr. Gonzalo Mardones
Correo: gonzalo.mardonesc@uss.cl

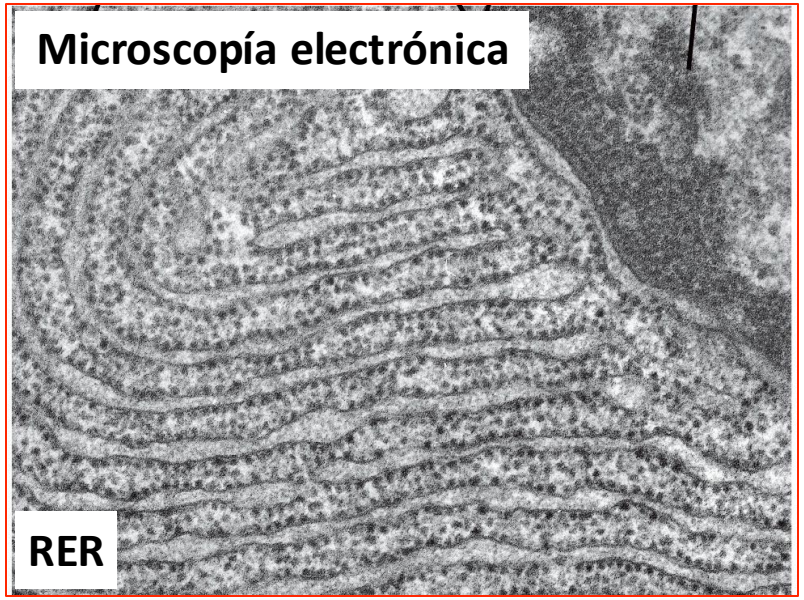
Rutas exocítica y endocítica

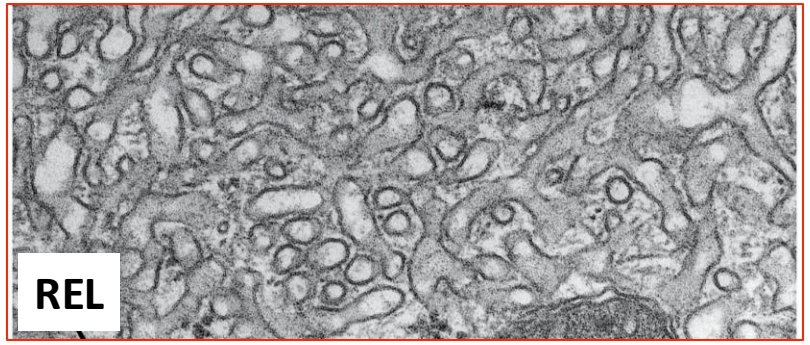


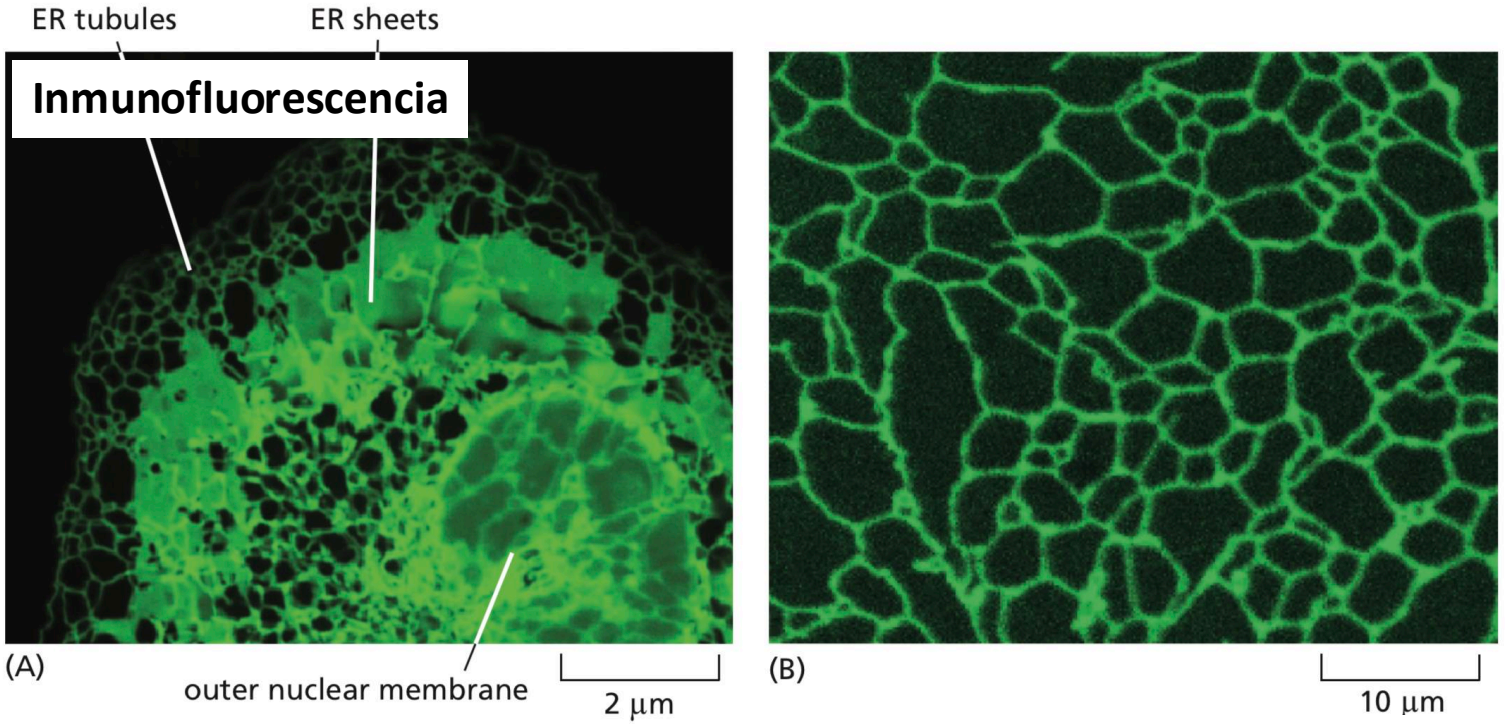
Rutas exocítica y endocítica



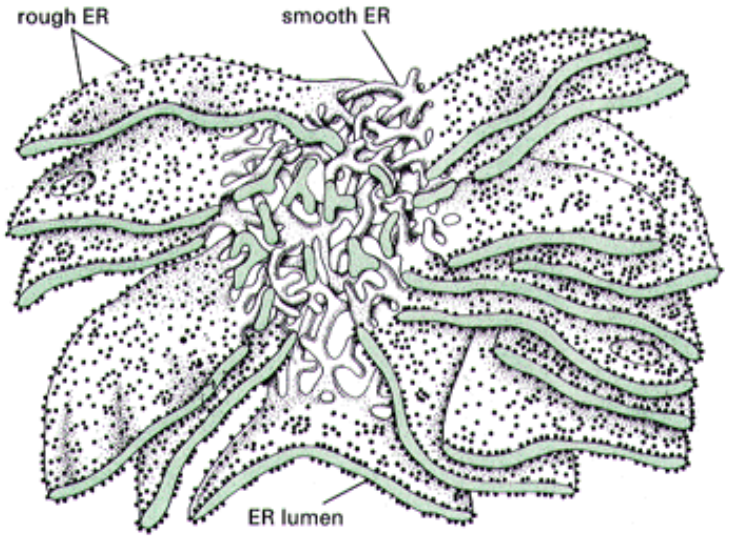
Retículo endoplásmico



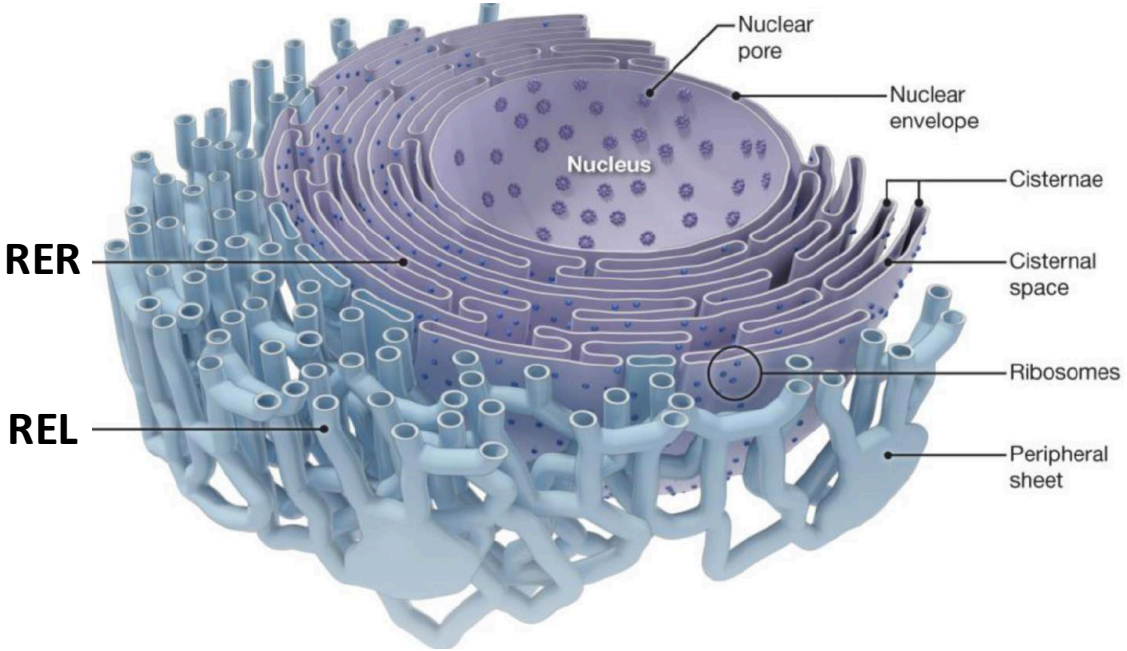


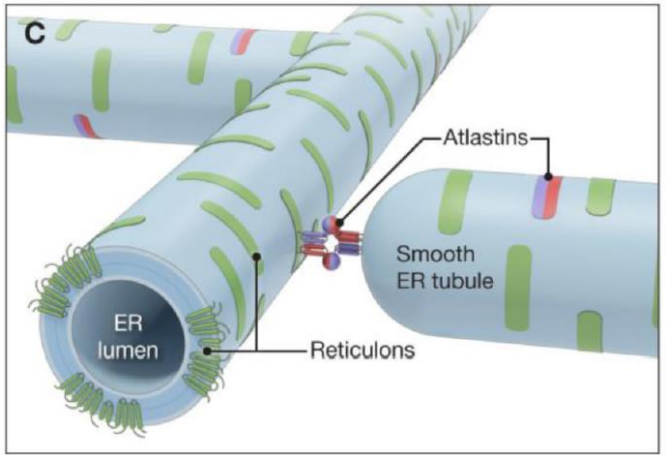


Red de túbulos alargados y sacos aplanados, apilados y anastomosados



Estructura del retículo endoplásmico





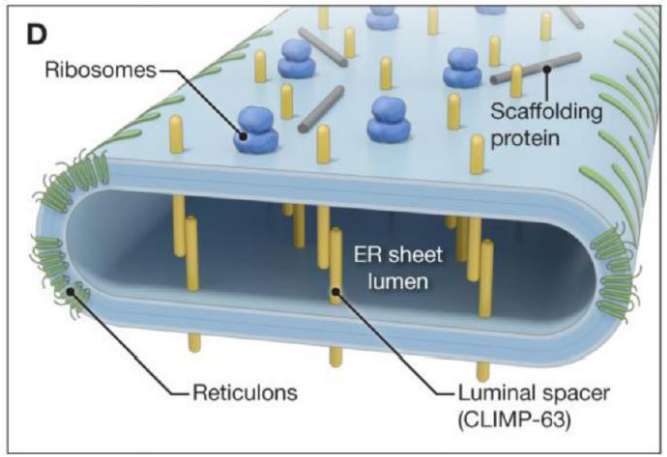
Tubos alargados y anastomosados

Reticulones: Curvatura de tubos

Estructura dinámica determinada por proteínas específicas

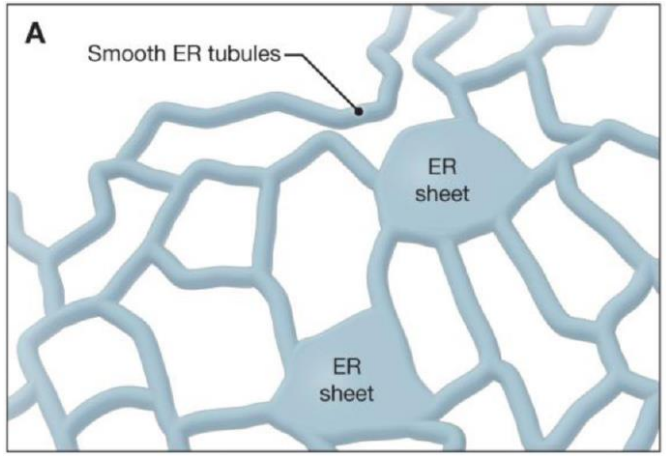
Atlastinas:

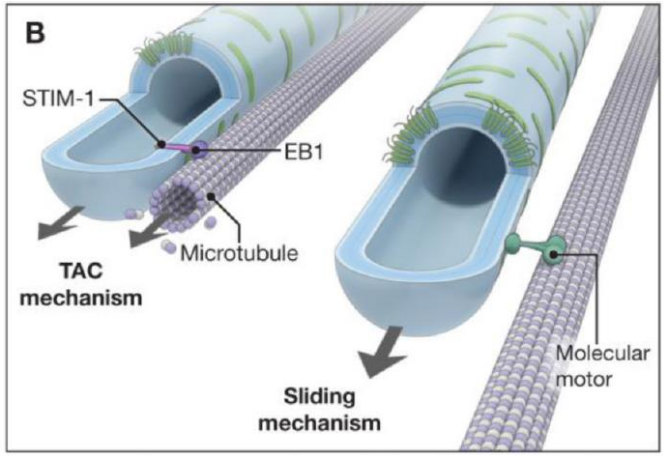
Modulan fisión y fusión de la red



Sábanas o sáculos aplanados conectados a tubos

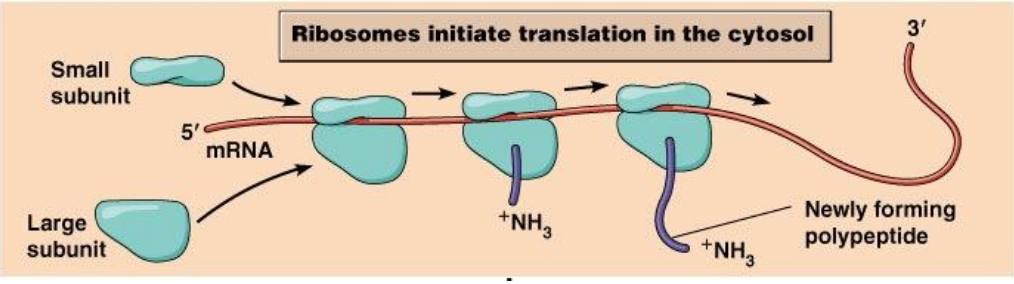
Climp-63: Forma sáculos

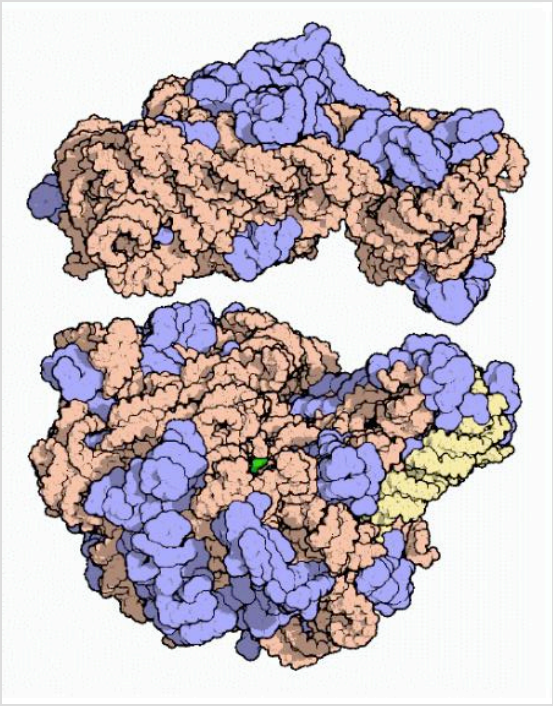




¿Cómo se destinan las proteínas de secreción al RE?

Traducción:
síntesis de proteína





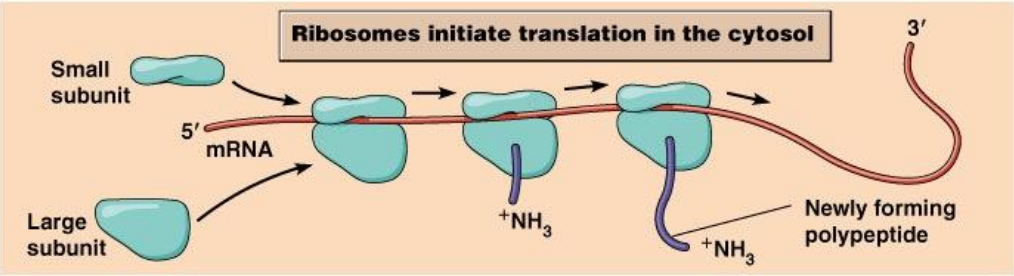
40S — 33 proteínas
rRNA 18S

60S — 49 proteínas
rRNA 5S, 5.8S, 28S

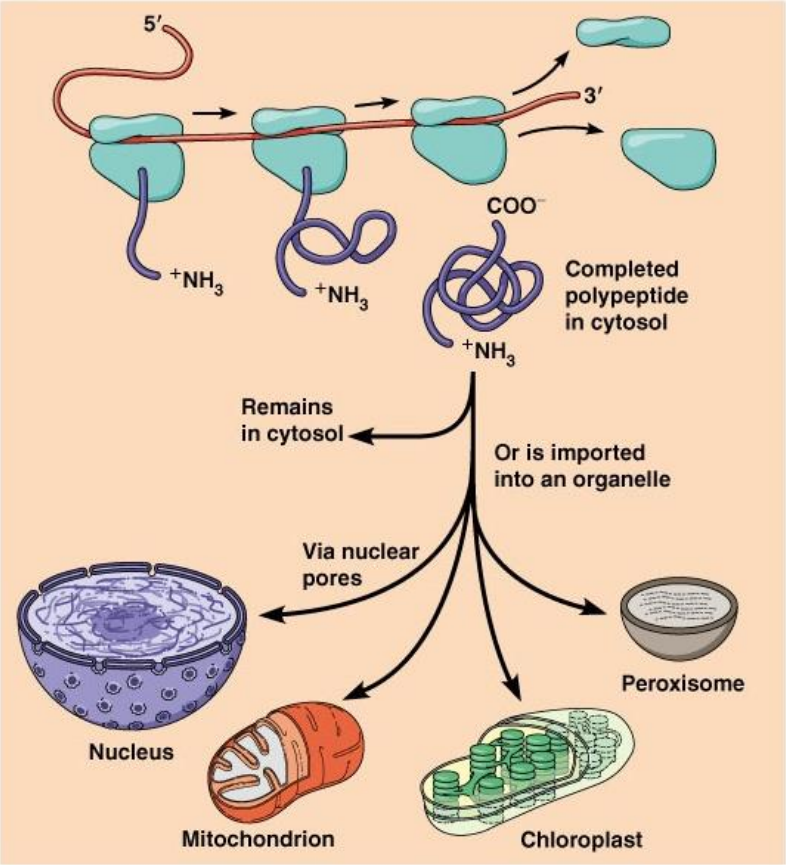
Azul: proteínas
Naranjo: RNA

¿Cómo se destinan las proteínas de secreción al RE?

Traducción: síntesis de proteína

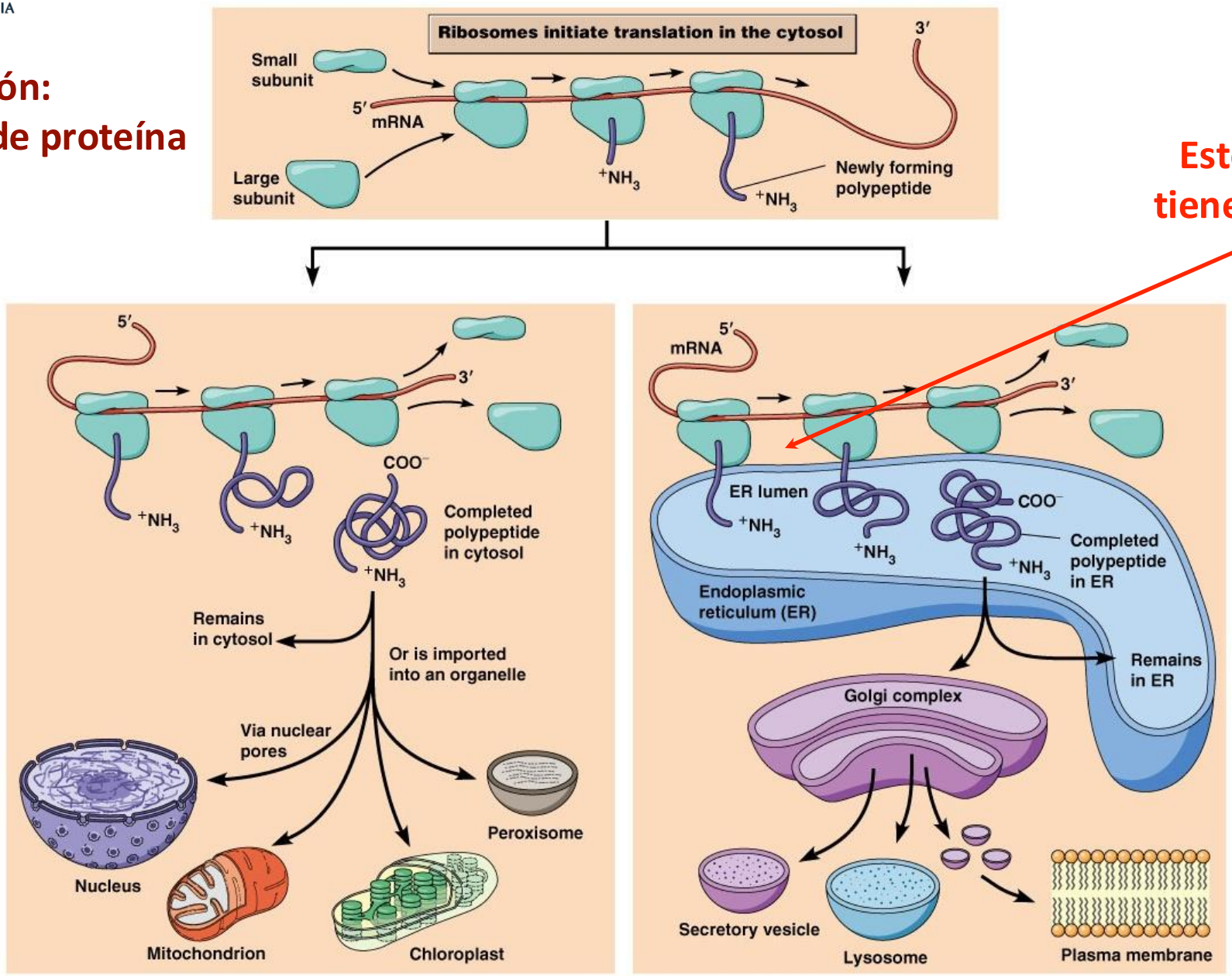


Polisoma en el citosol sintetiza proteínas que no entran al retículo endoplásmico



¿Cómo se destinan las proteínas de secreción al RE?

Traducción: síntesis de proteína



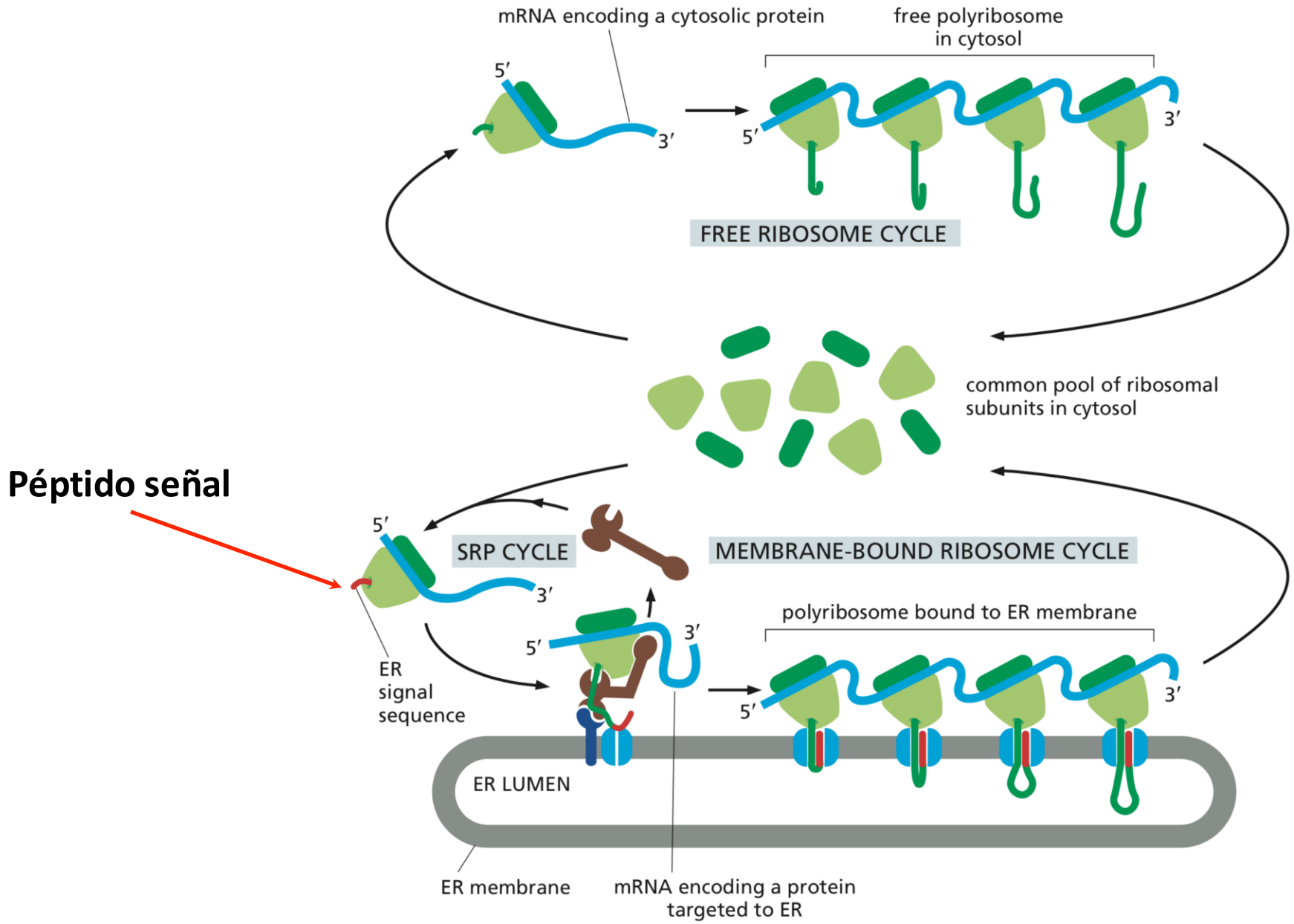
© 2012 Pearson Education, Inc.

Este esquema tiene un error!!!

Polisoma en el citosol sintetiza proteínas que no entran al retículo endoplásmico

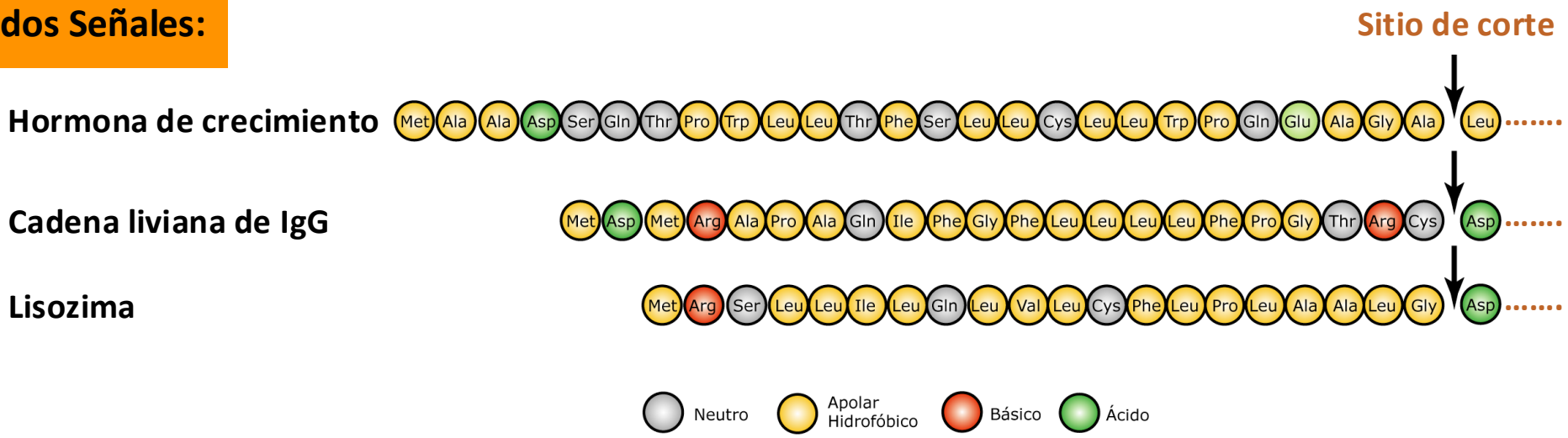
Polisoma unido a membrana del retículo endoplásmico sintetiza proteínas que entran a la ruta exocítica

¿Qué determina que los polisomas que sintetizan proteínas de secreción se unan a la membrana del retículo endoplásmico?



¿Qué determina que los polisomas que sintetizan proteínas de secreción se unan a la membrana del retículo endoplásmico?

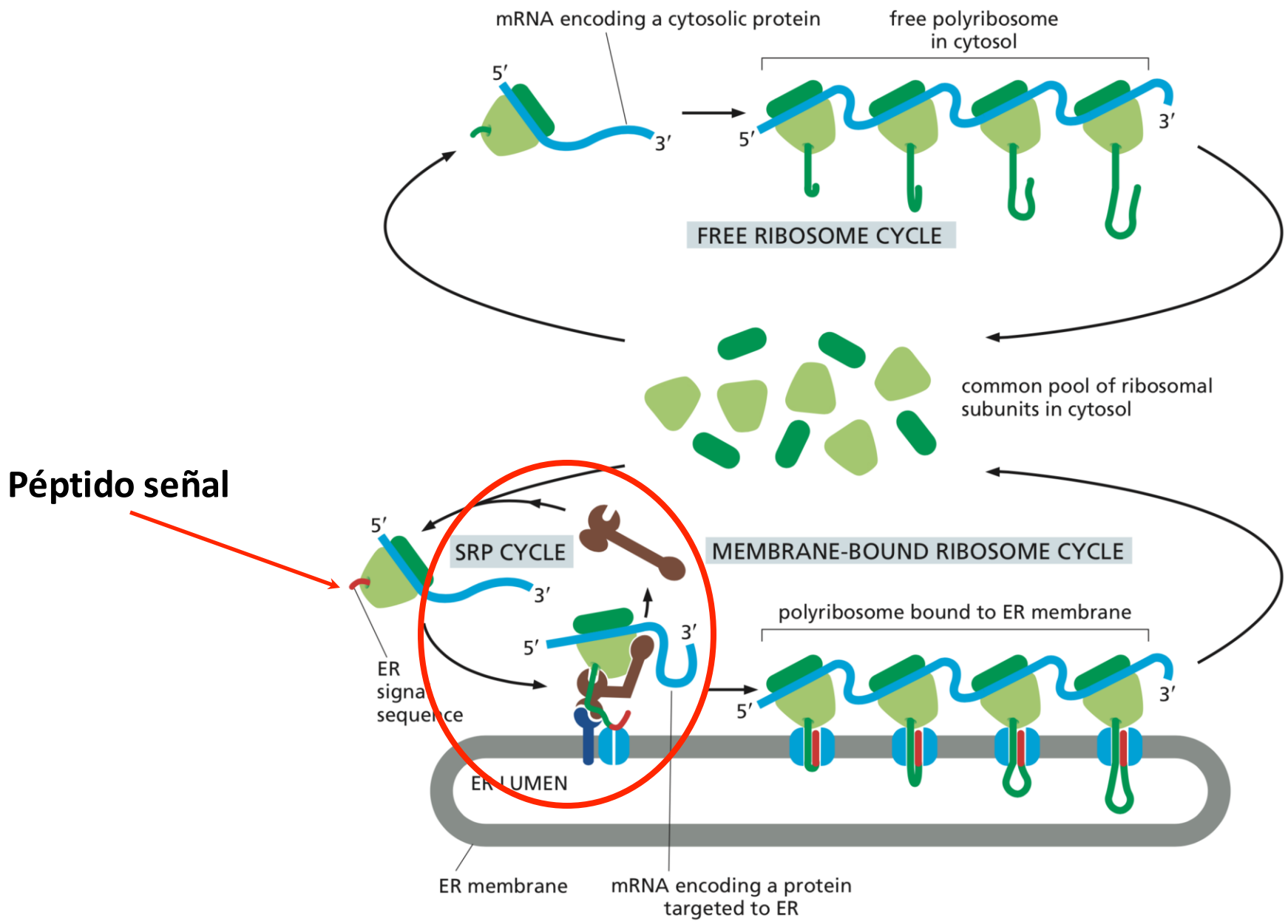
Péptidos Señales:



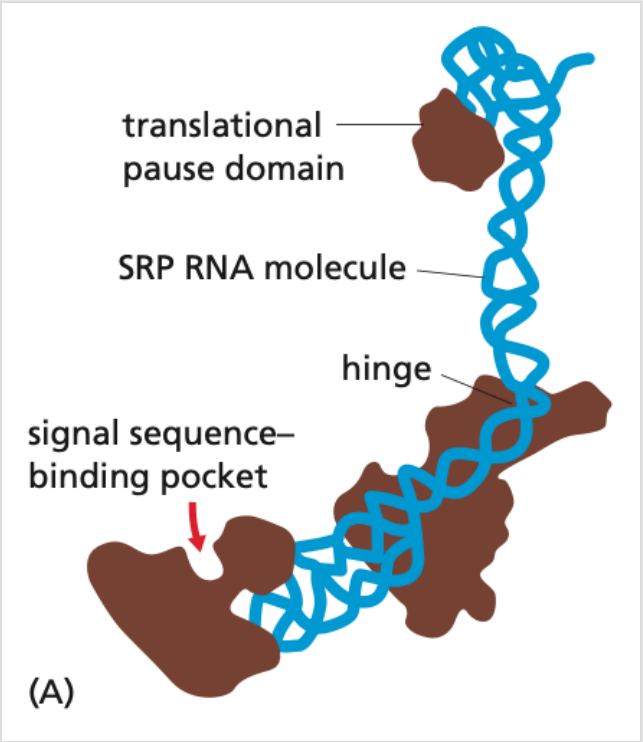
Péptido señal:

- Amino terminal (los primeros identificados)
- Señal de unión de polisomas al RE
- Amino ácidos hidrofóbicos o apolares y flancos cargados
- Se corta (o no) co-traduccionalmente

¿Cómo es reconocido el péptido señal?



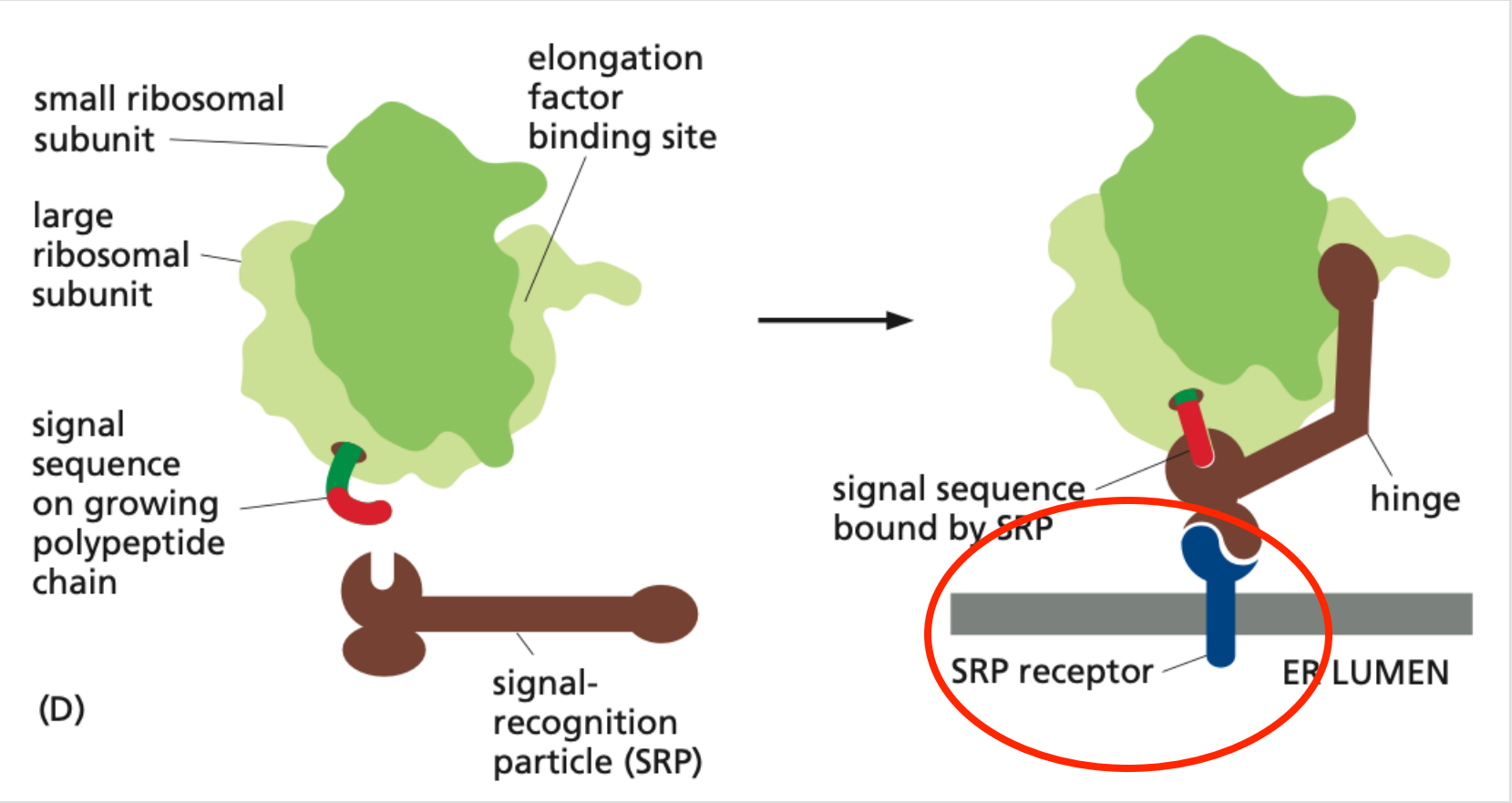
SRP (Signal Recognition Particle): el receptor de péptidos señales



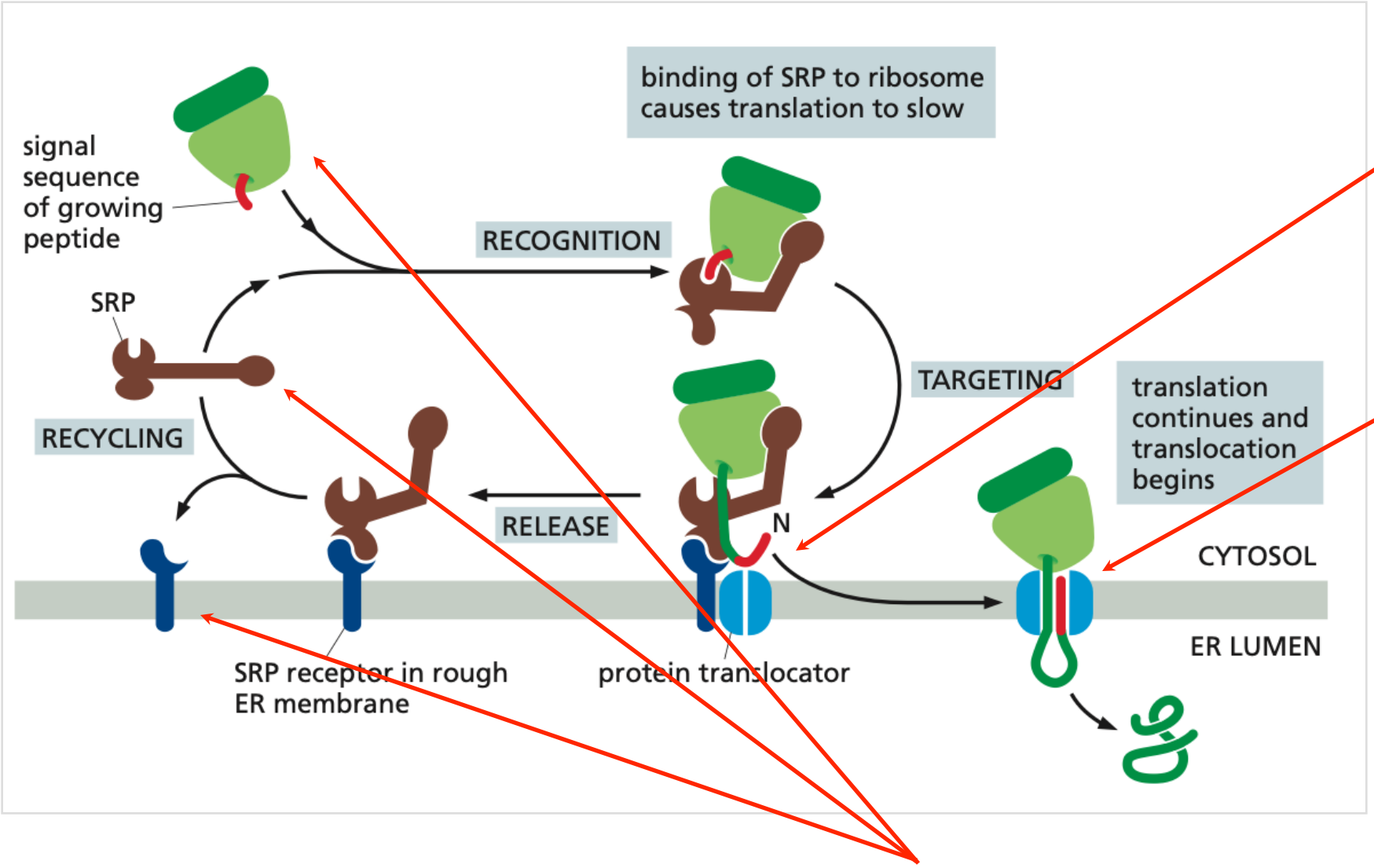
6 proteínas
1 RNA (7SL)

El SRP se une al péptido señal naciente e inhibe la elongación de la traducción

¿Cómo es reconocido el péptido señal en la membrana del RE?



¿Cómo se reanuda la elongación del péptido naciente en el RE?



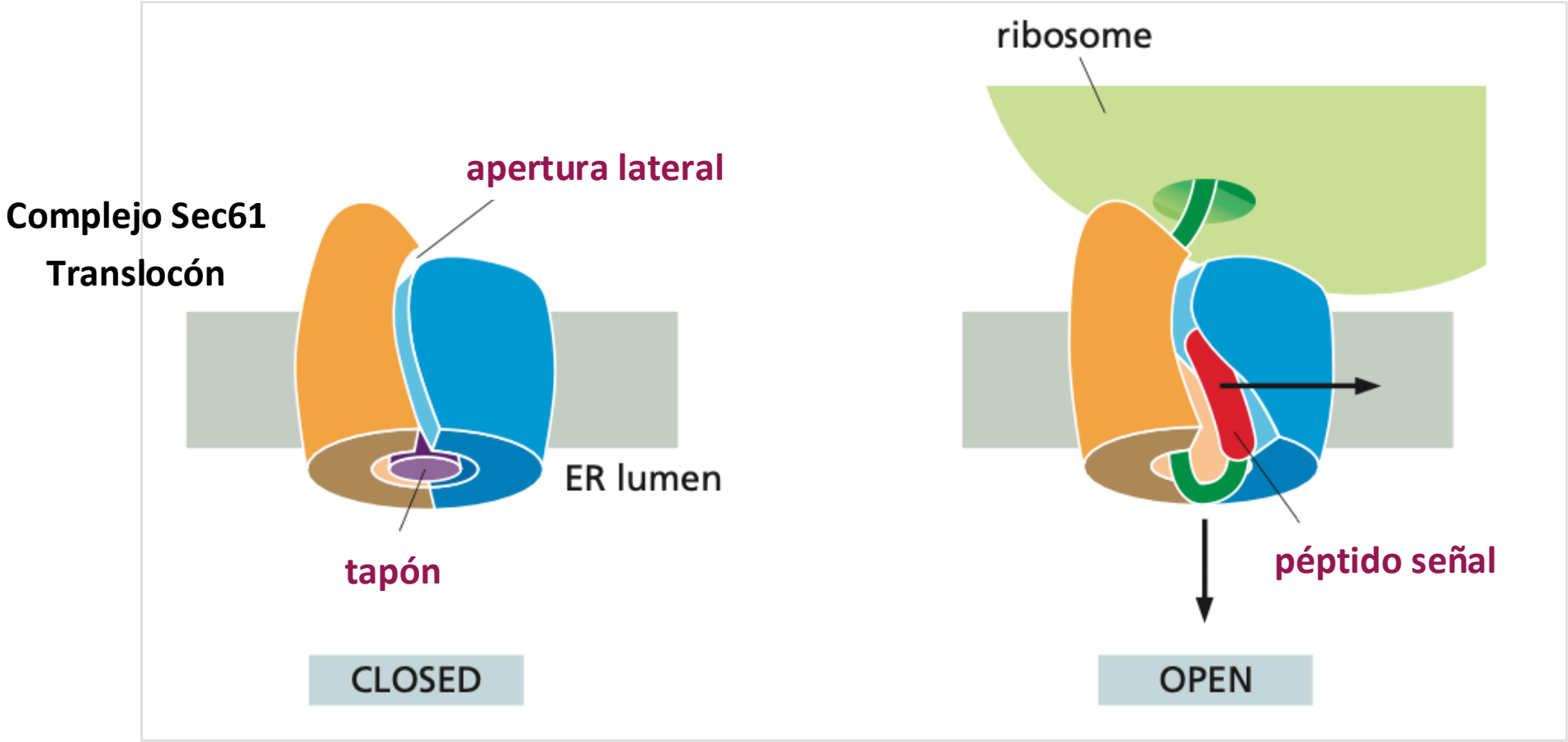
El receptor de SRP se une a una proteína translocadora

Complejo Sec61

La traducción continúa y comienza la translocación

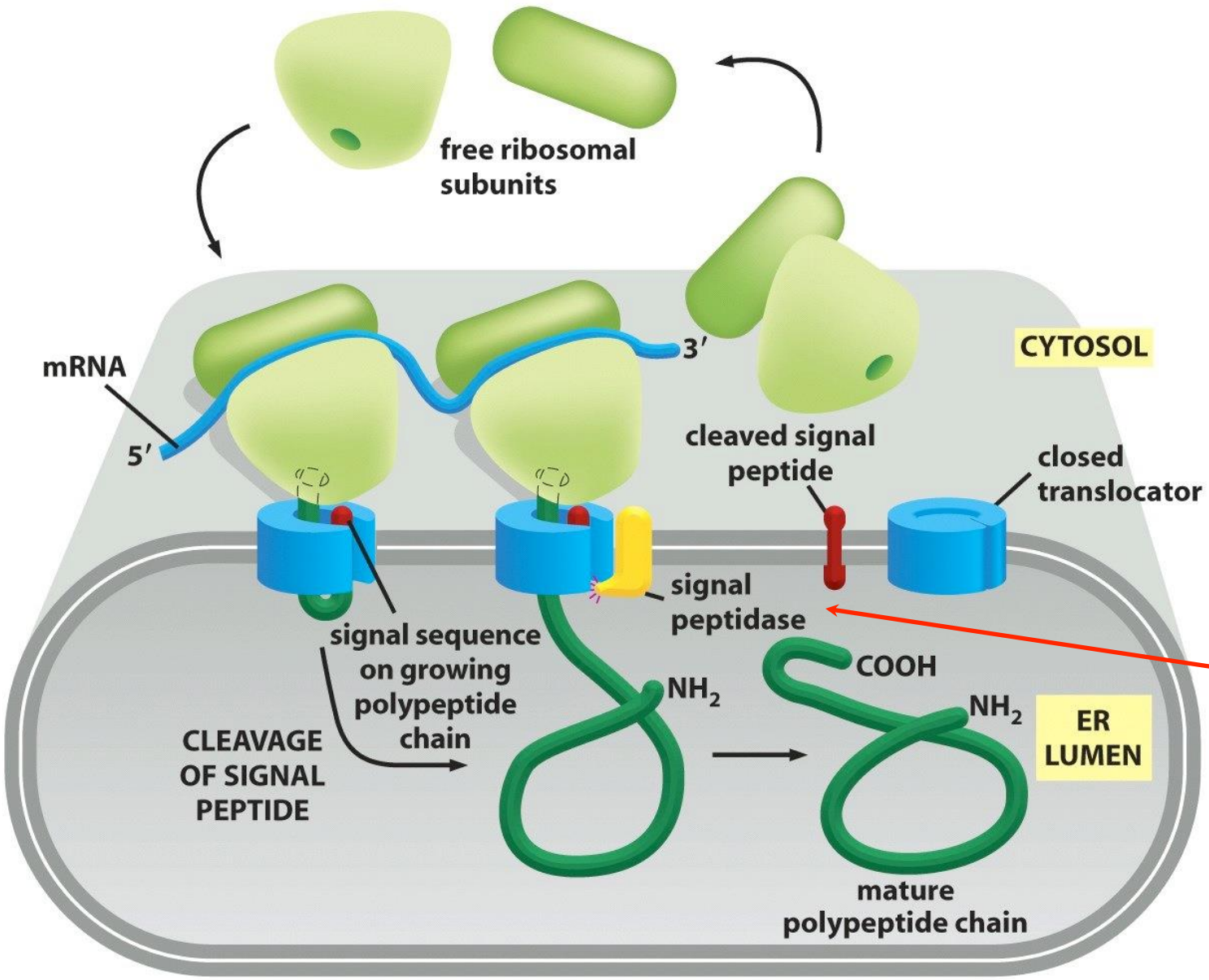
Reciclaje de ribosomas y SRP durante la síntesis de proteínas en el retículo endoplasmático

Etapas en la translocación de una proteína de secreción



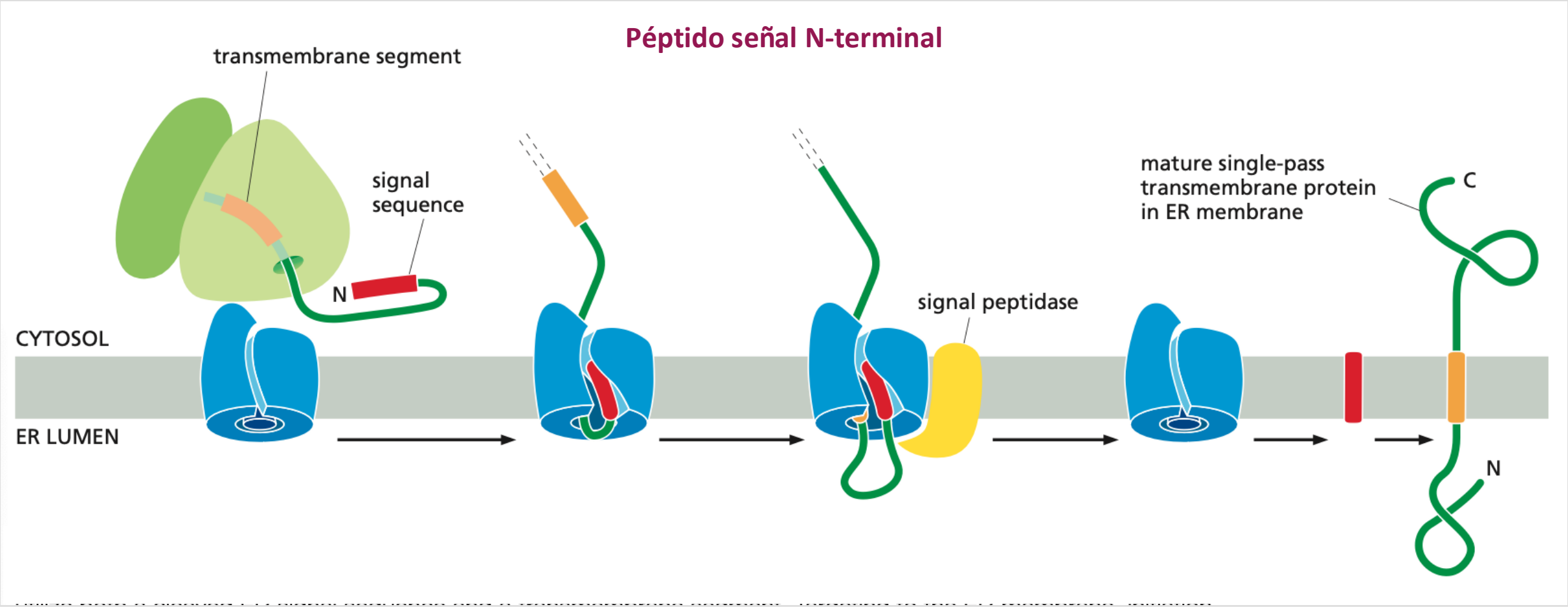
La proteína naciente forma un asa al entrar al canal del translocón, dejando el péptido señal interactuando con una región específica del túnel

El péptido señal se corta por una "Peptidasa de señal"

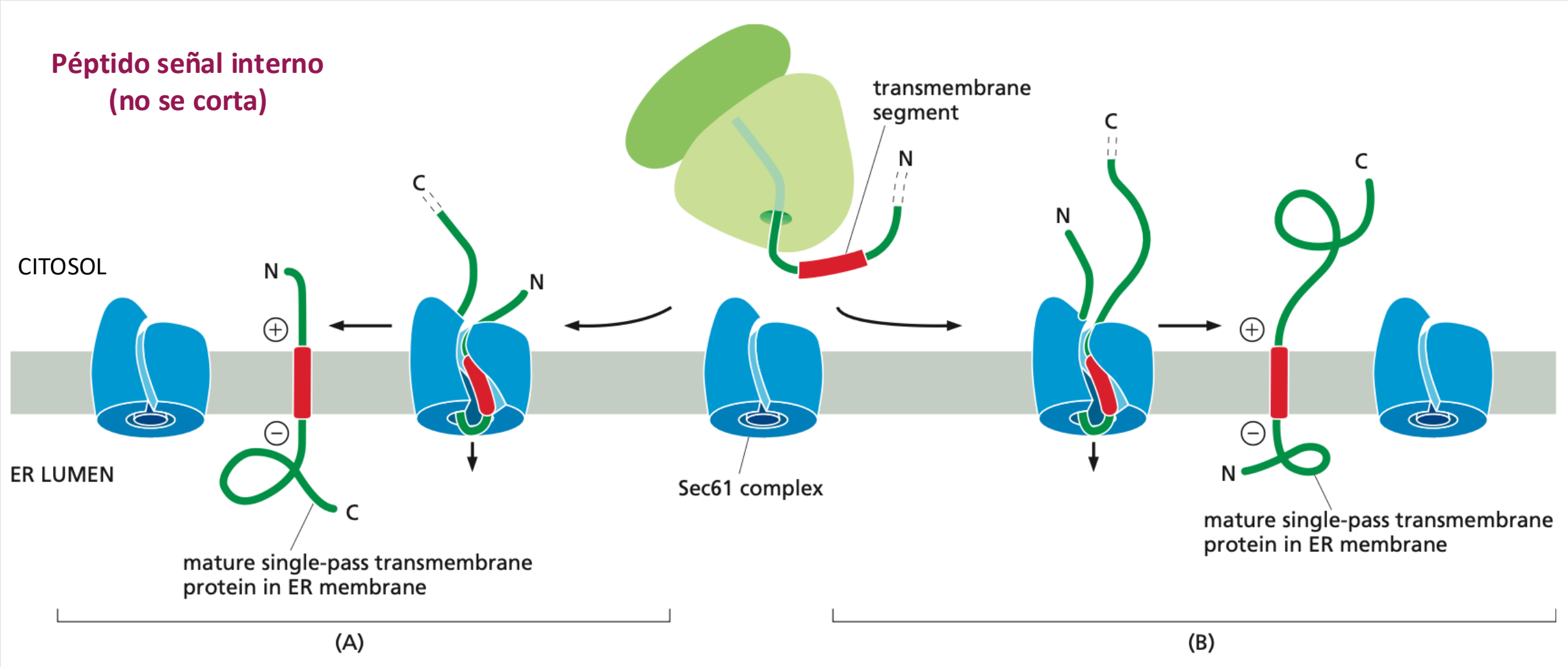


Peptidasa de señal

Translocación y topología de proteínas de transmembrana



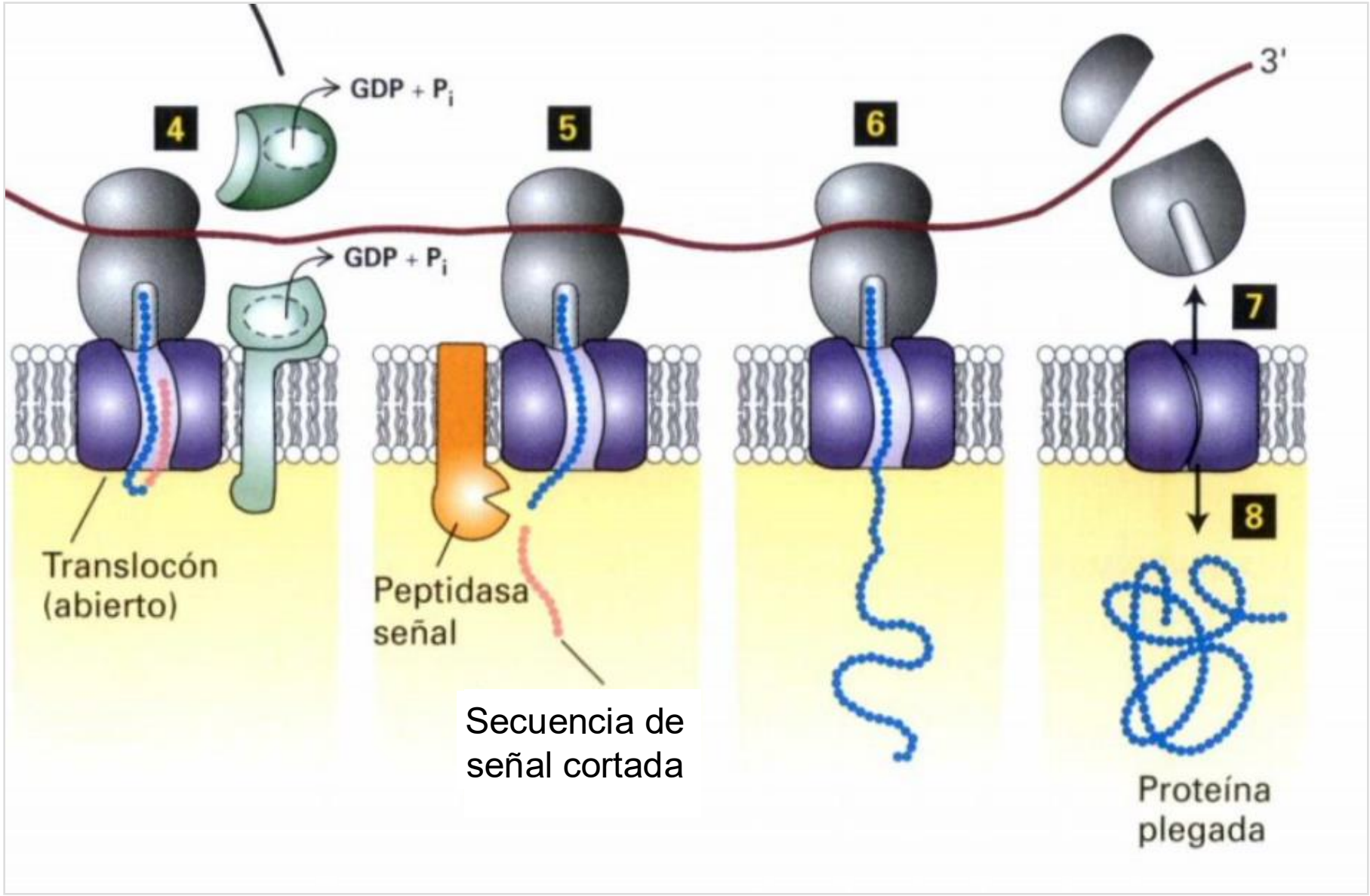
Translocación y topología de proteínas de transmembrana



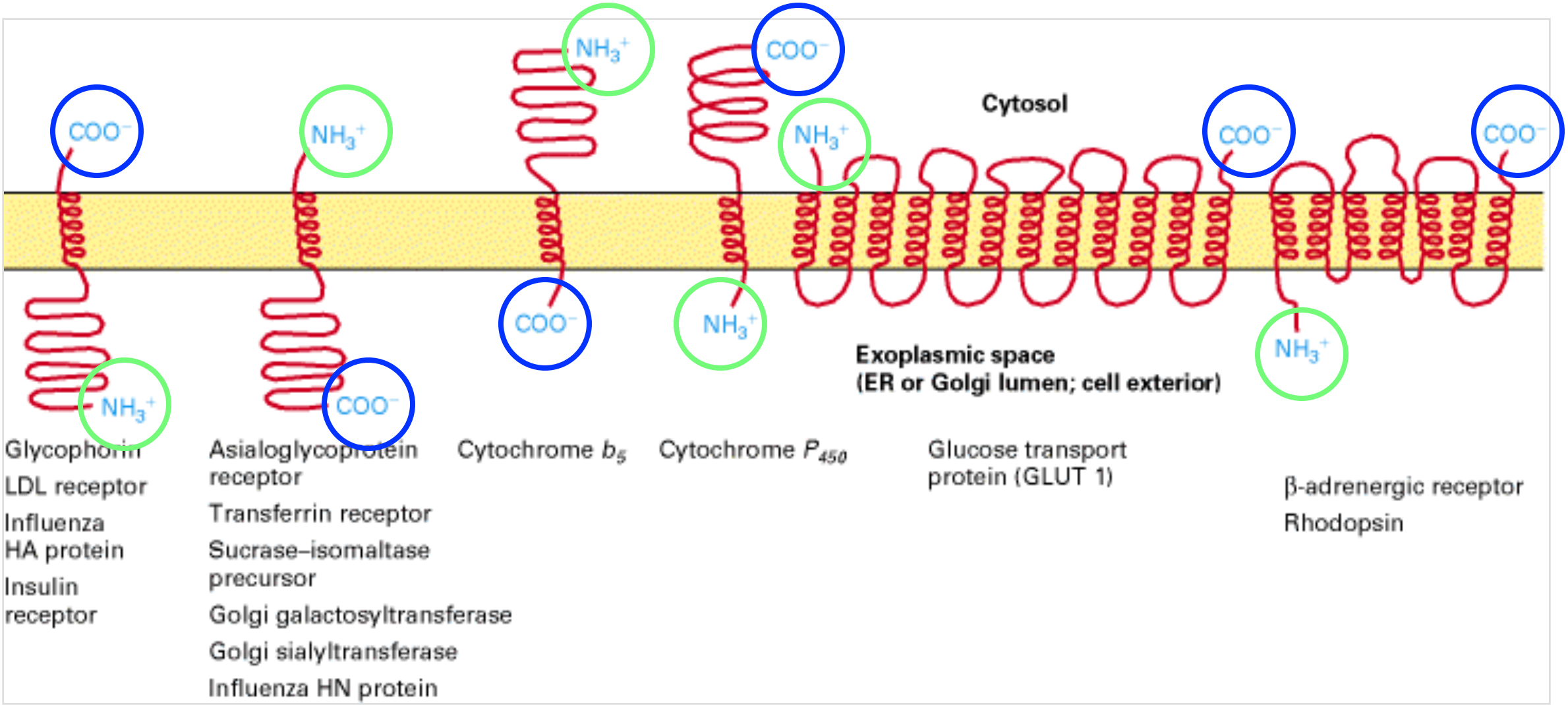
N-terminal citosólico
Transmembrana Tipo-II

C-terminal citosólico
Transmembrana Tipo-I

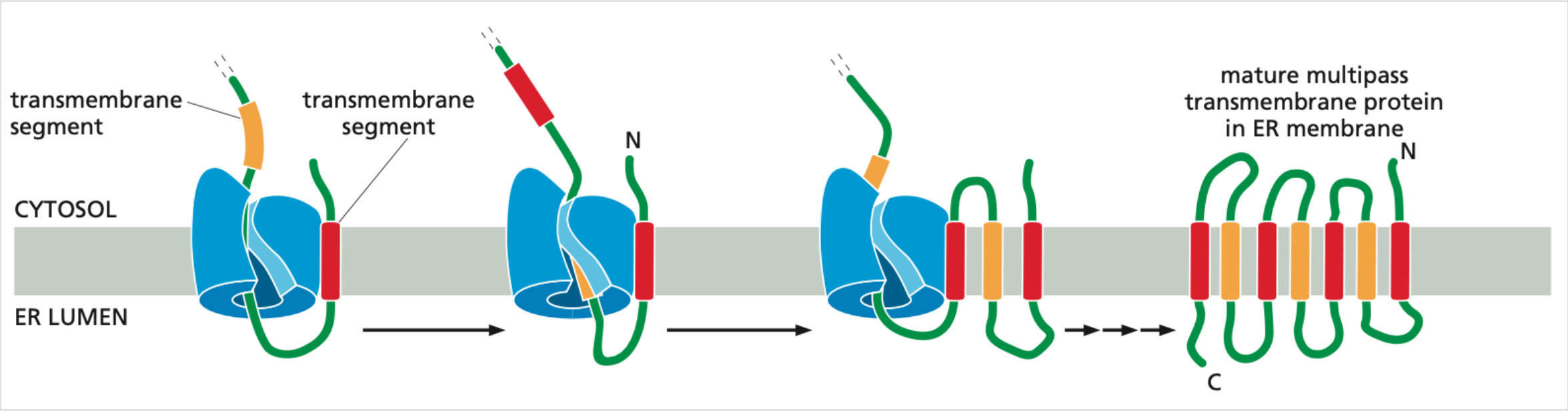
Translocación cotraduccional: proteínas de secreción



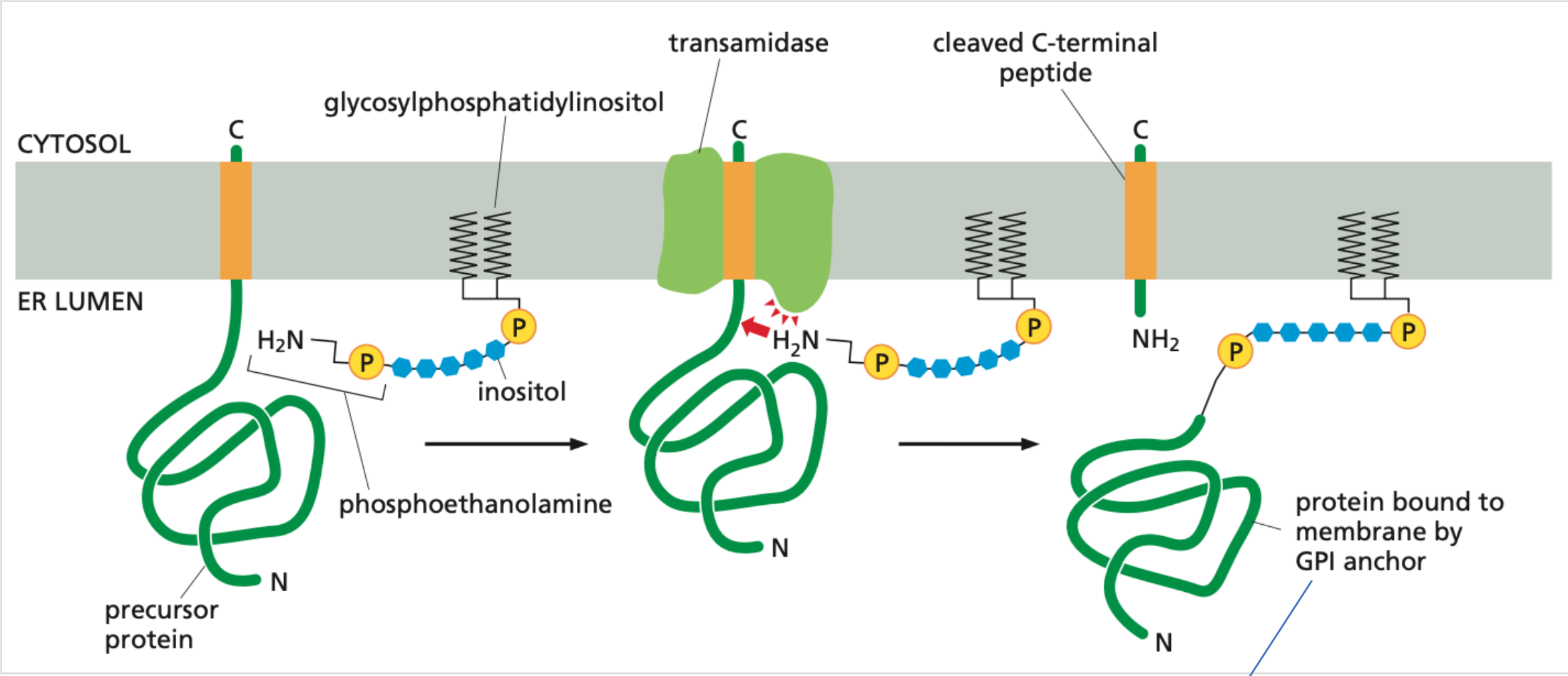
La topología de proteínas de transmembrana es determinada en el RE



La topología de proteínas de transmembrana es determinada en el RE

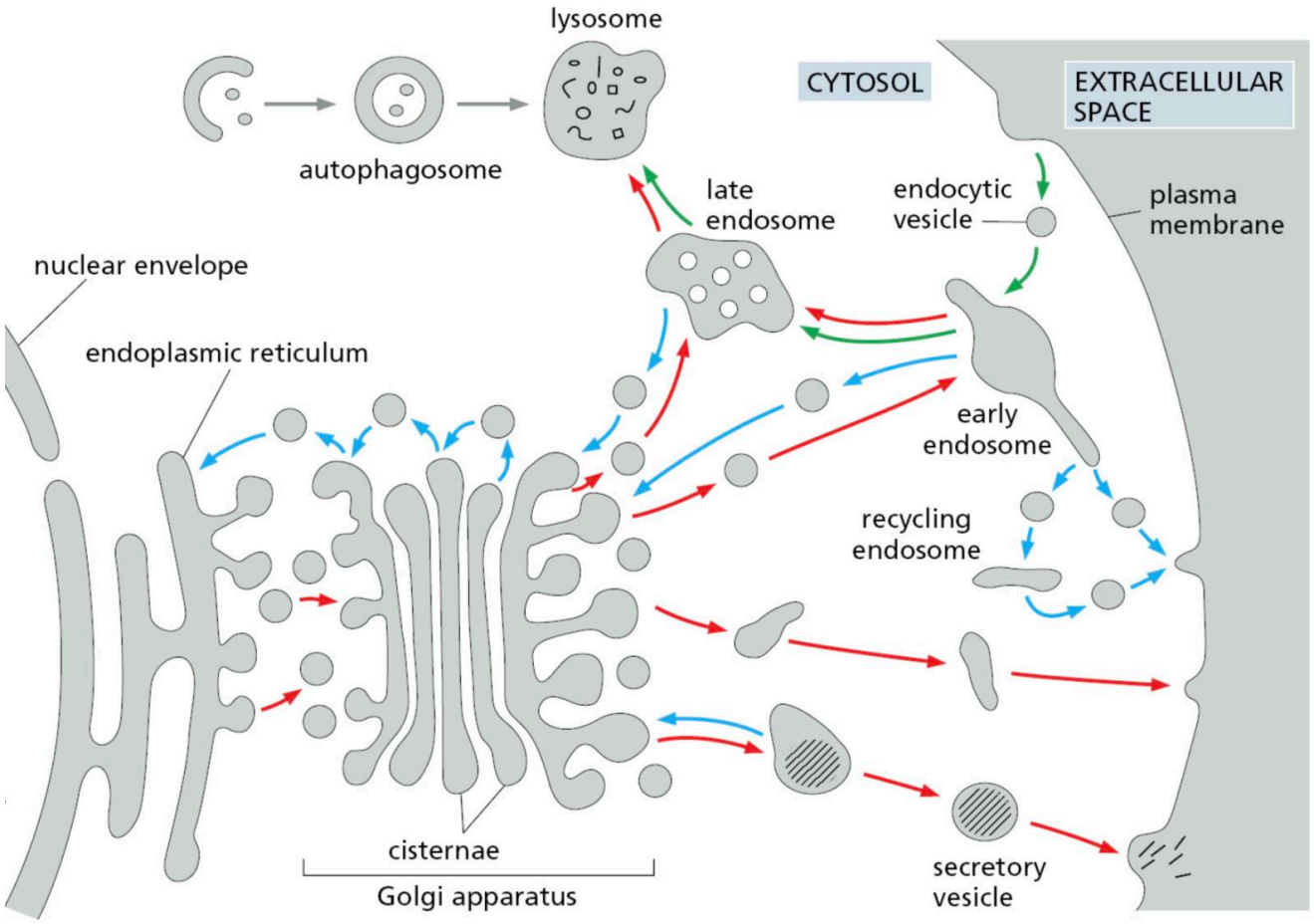


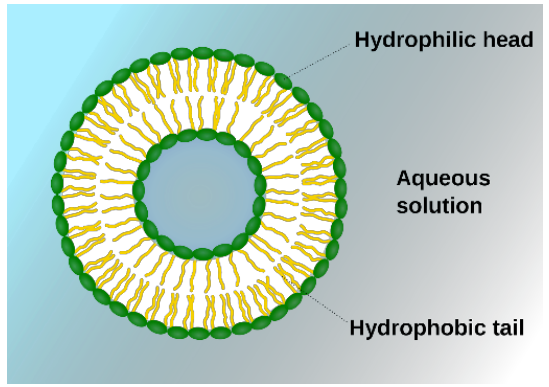
La topología de proteínas de transmembrana es determinada en el RE

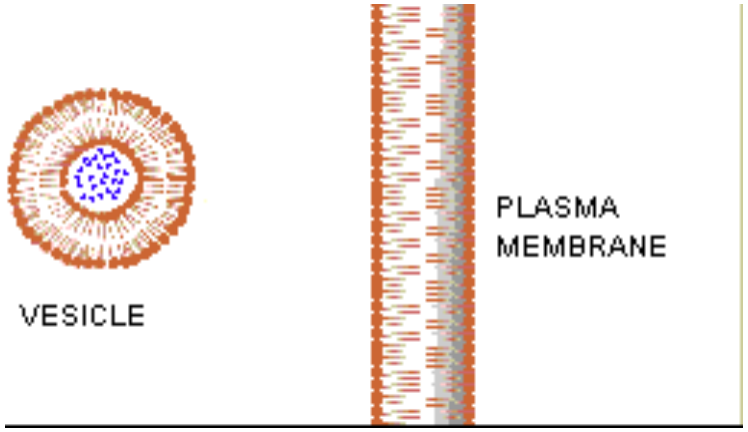


GPI: glicosil-fosfatidil-inositol

Compartimentos de las rutas exocíticas y endocíticas y sus sistemas de transporte

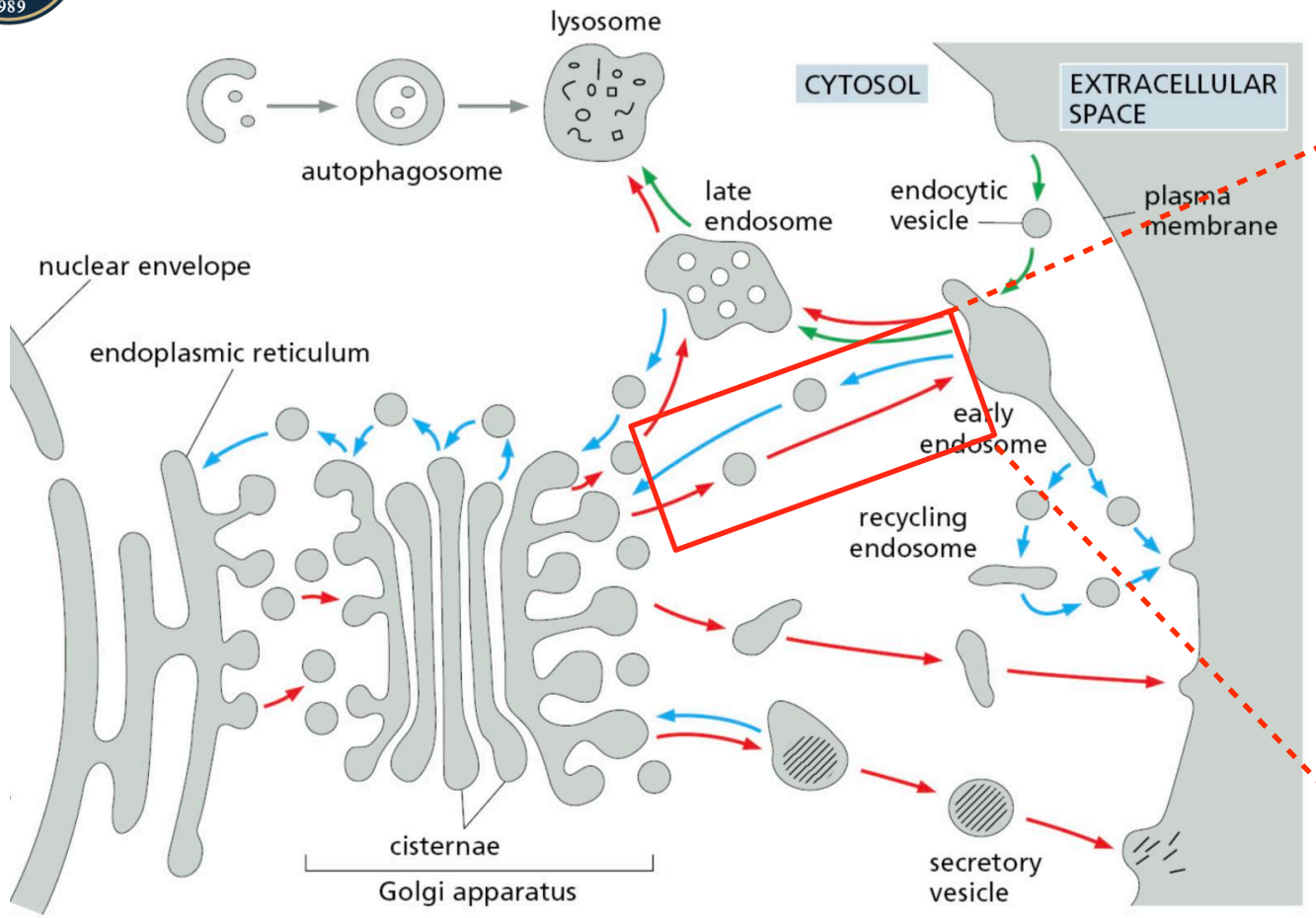


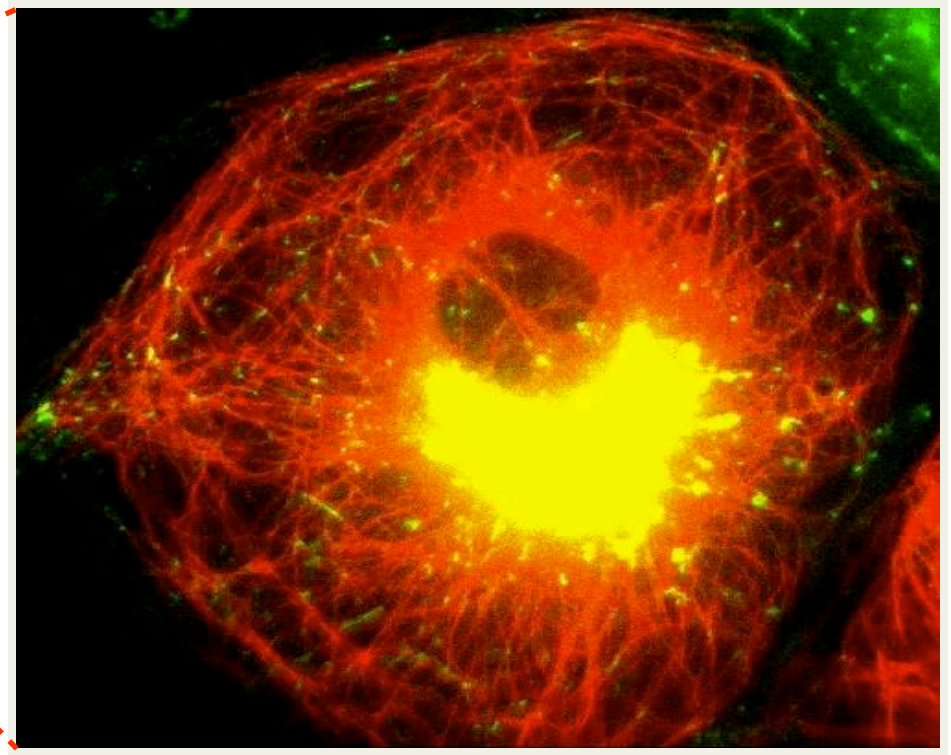




En las rutas exocítica y endocítica 1) se generan vesículas de transporte desde un compartimento donador, 2) movimiento de las vesículas, y 3) fusión de estas vesículas con un compartimento aceptor específico

Tráfico vesicular en las rutas exocítica y endocítica

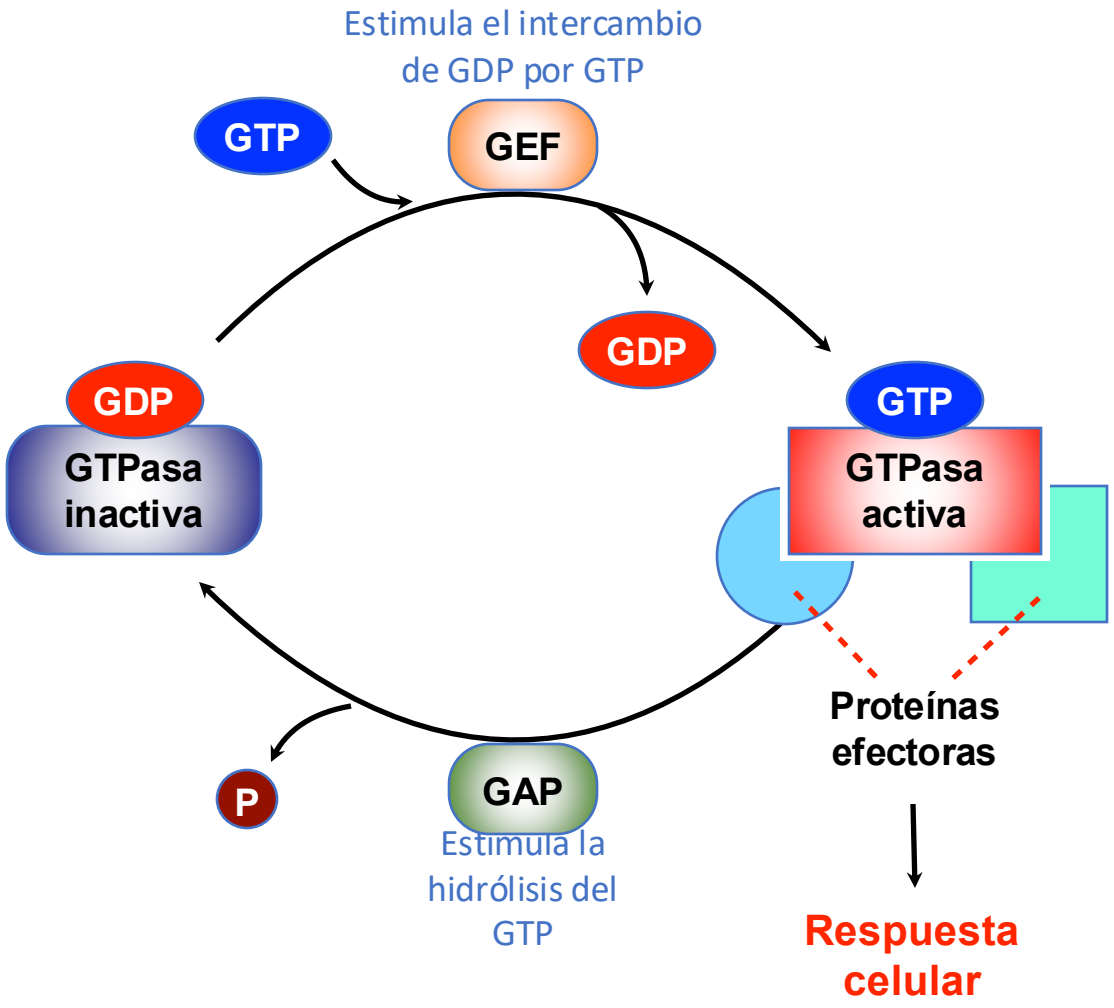




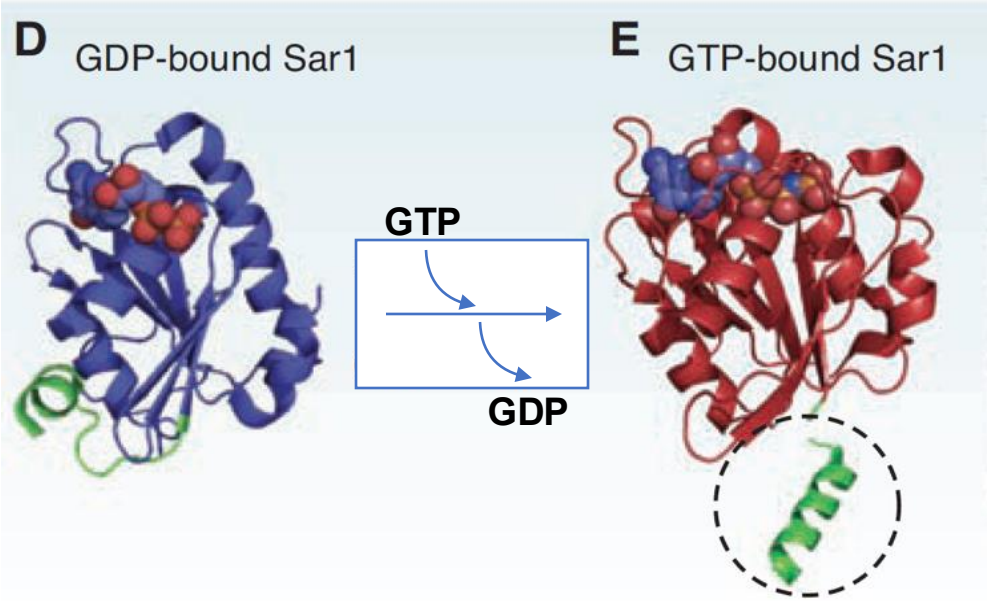
GTPasas en la formación de vesículas: Sar1 y Arf1

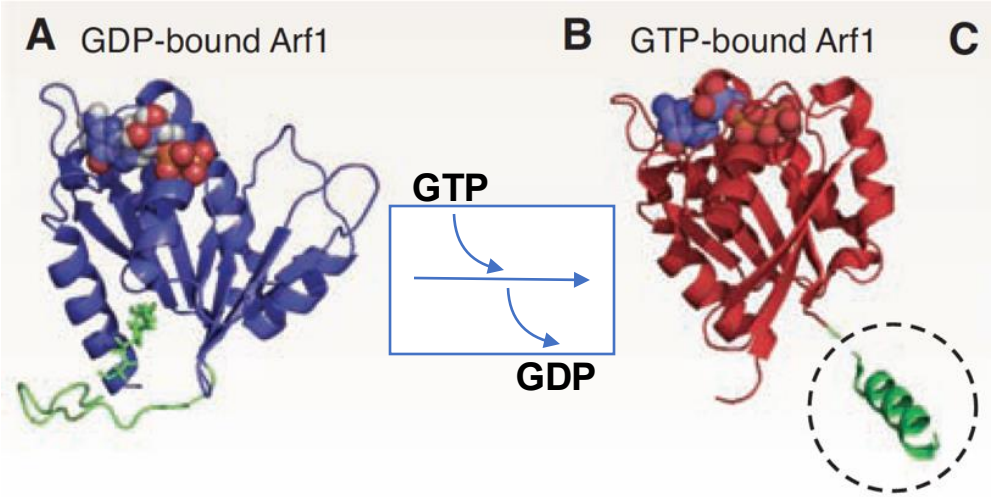
GTPasas

- Su ciclo de activación e inactivación implica cambios conformacionales e interacciones con distintas proteínas
- Organizan procesos vectoriales (en un sentido)



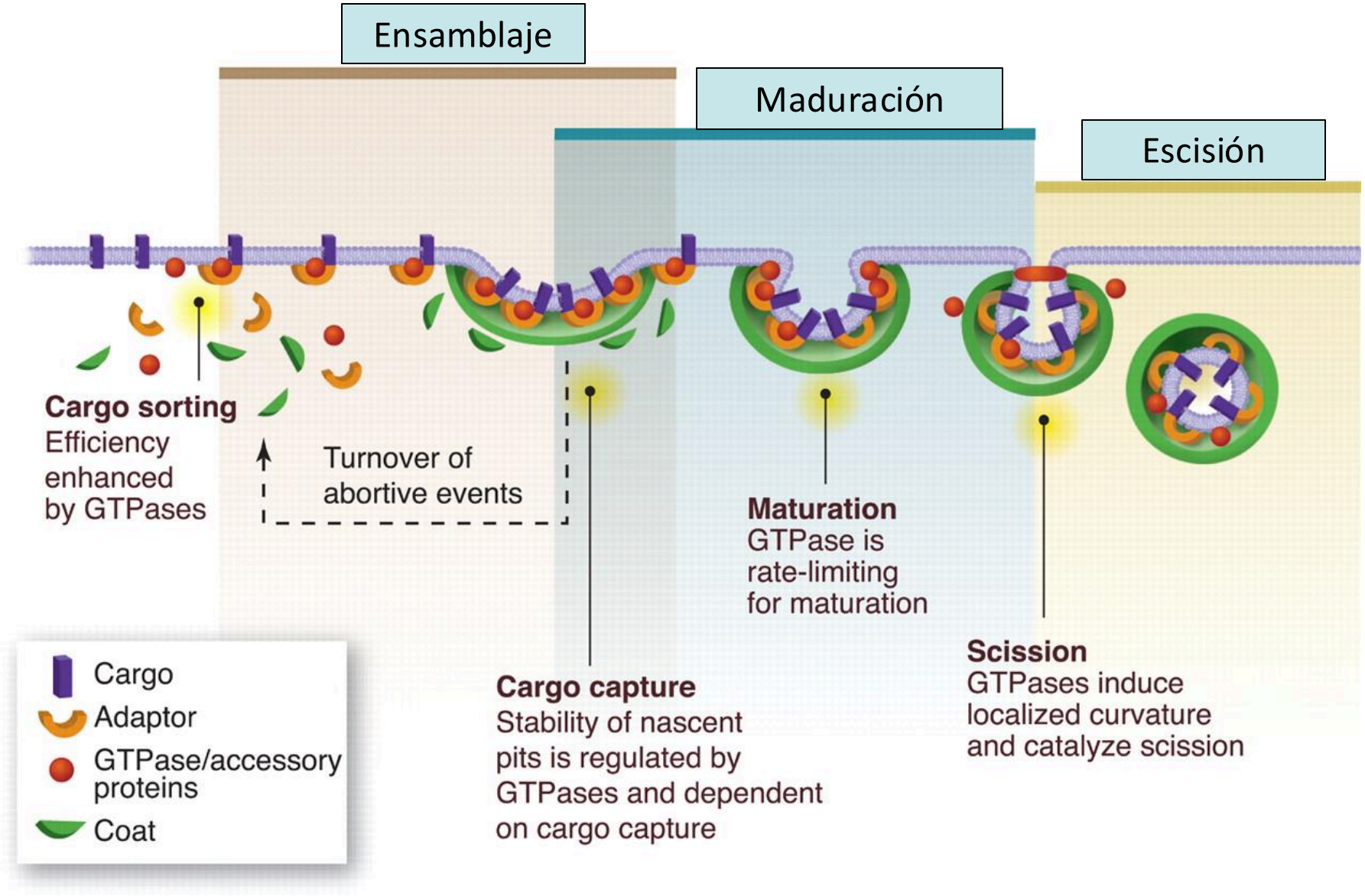
Cambio conformacional en Sar1 y Arf1 expone una alfa hélice que les permite su asociación a membrana





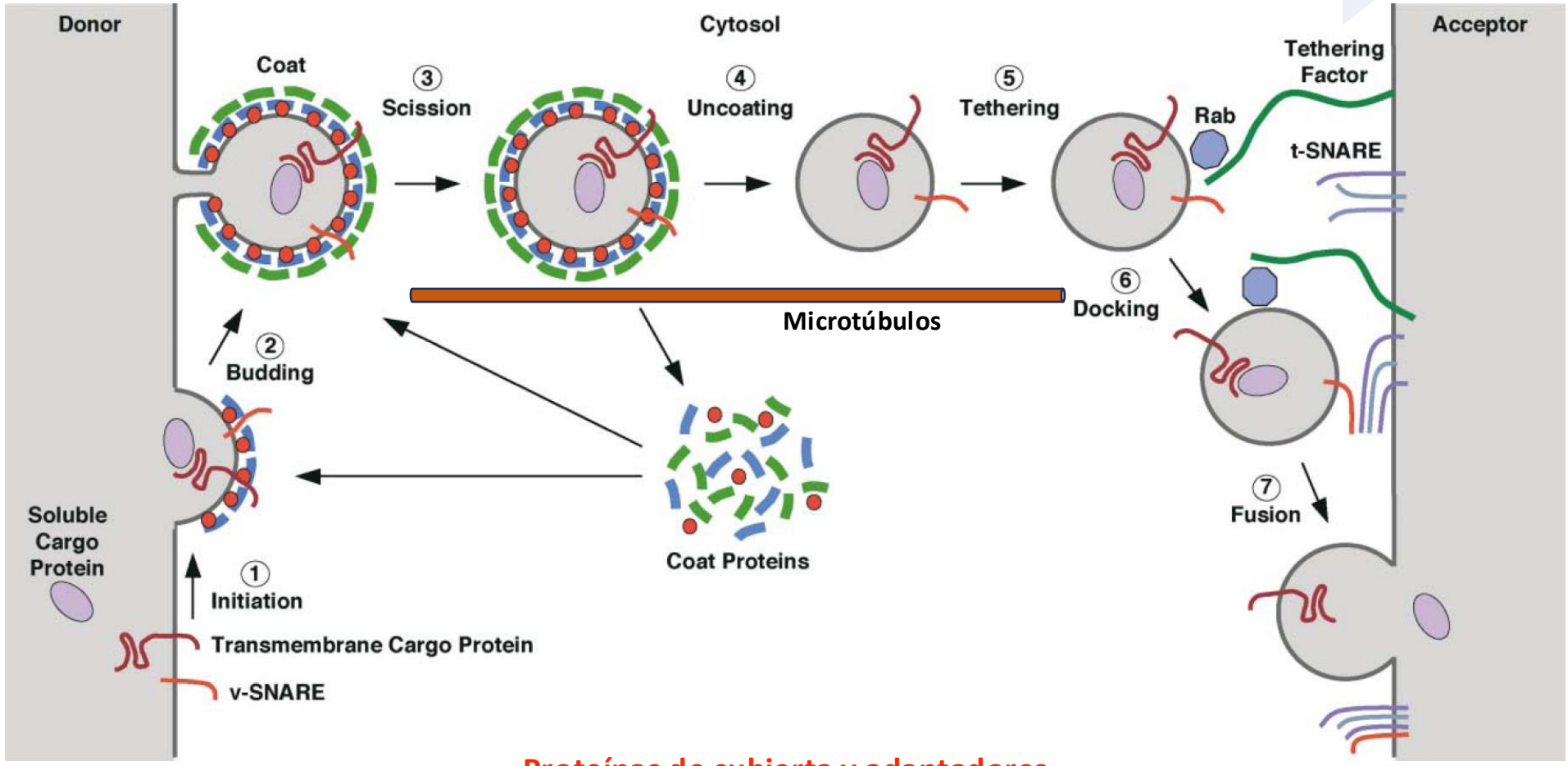
Se asocian y disocian de las membranas durante su ciclo de activación/des activación

Formación de vesículas



Fundamentos del tráfico vesicular de proteínas

Reguladores GTPasas → **Formación de la vesícula** → **Perdida de la cubierta** → **Transporte** → **Acoplamiento**



Señales de destinación

- RE-Golgi
- Golgi-MP
- Golgi-lisosomes

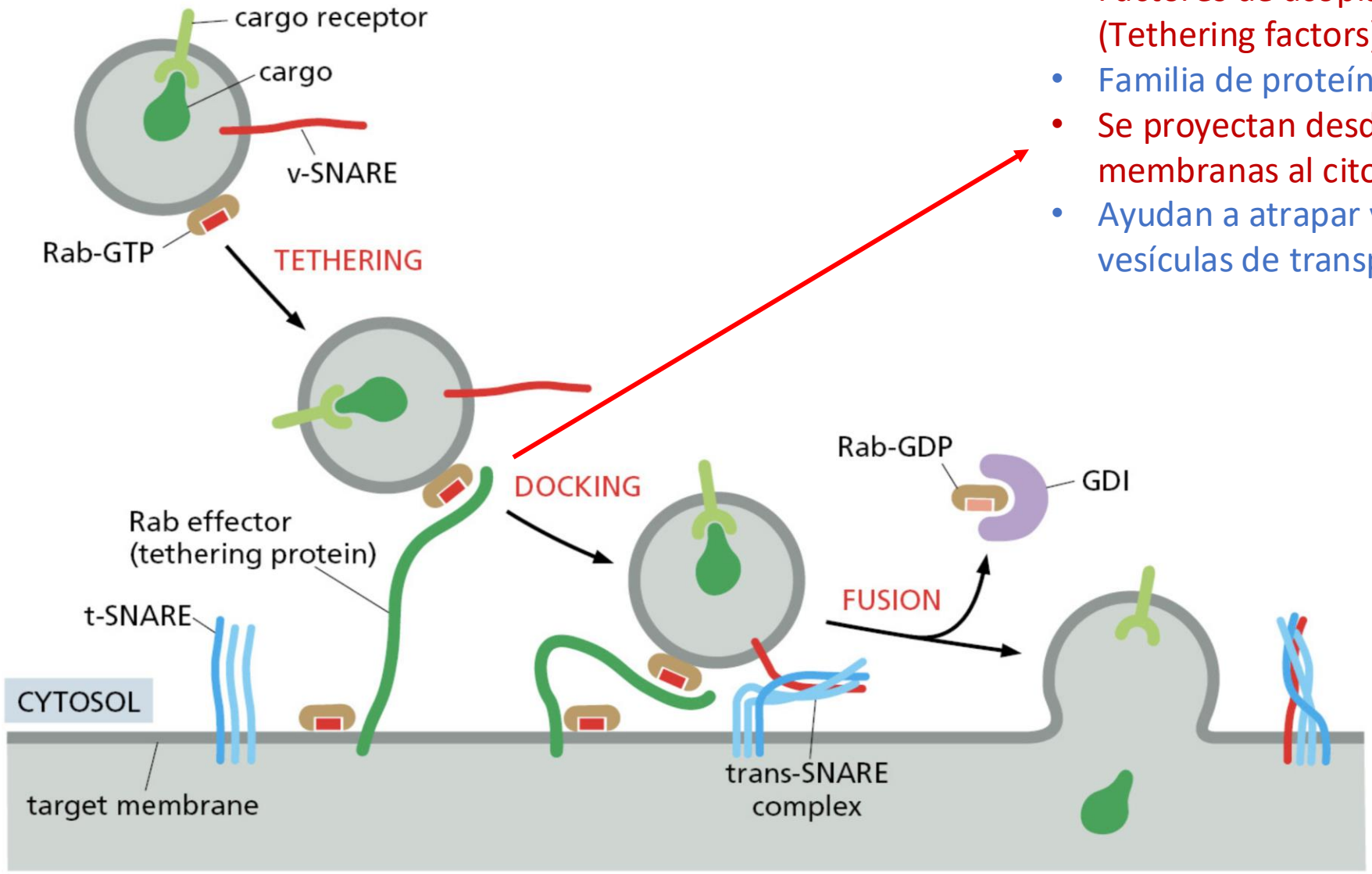
Proteínas de cubierta y adaptadores

- Clatrina/adaptinas (PM, TGN, Endo)
- COP-I (Golgi-ER)
- COP-II (ER-Golgi)
- Retrómero-Retriever (Endosomas)

Fusion

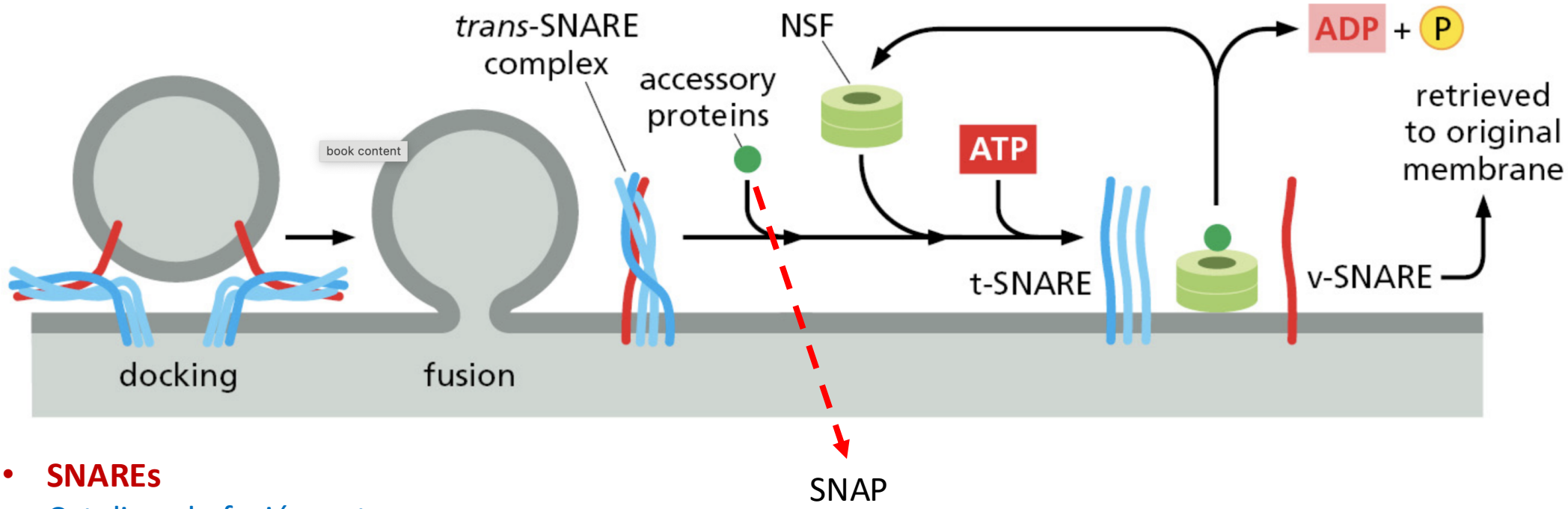
- SNARES
- Factores de acoplamiento

Etapas y componentes en la fusión de una vesícula con una membrana



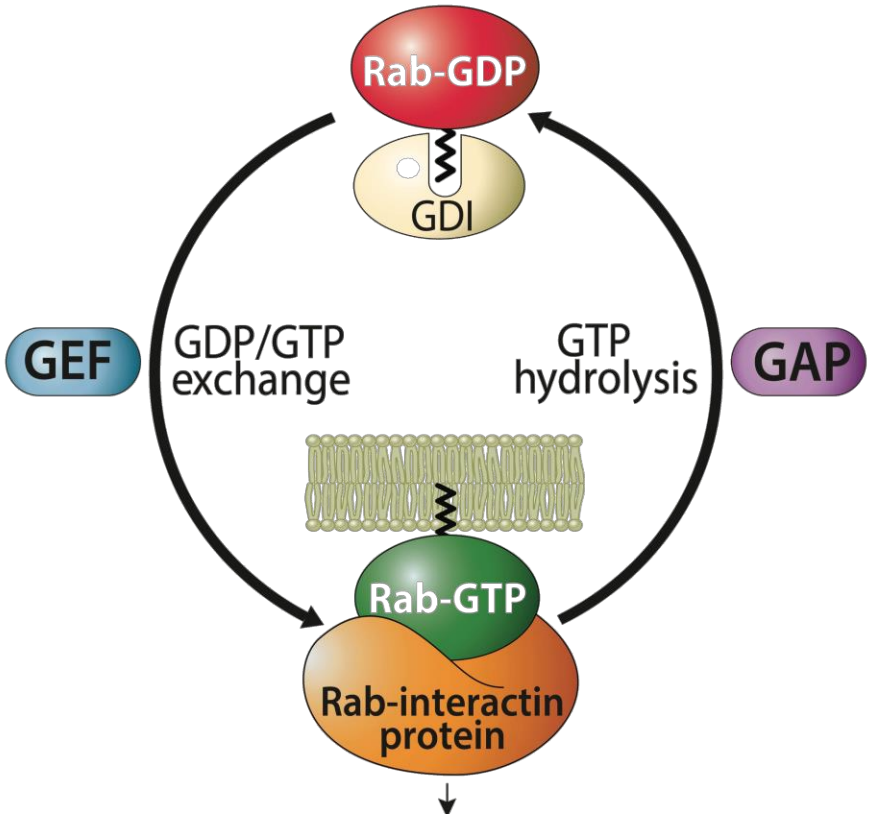
- Factores de acoplamiento (Tethering factors)
- Familia de proteínas
- Se proyectan desde las membranas al citosol
- Ayudan a atrapar y acercar vesículas de transporte

Mecanismo de fusión específica entre membranas mediada por SNAREs



- **SNAREs**
- Catalizan la fusión entre membranas específicas
- Acercan las membranas y expelen el agua entremedio
- 35 SNAREs distintos en membranas específicas de las rutas exocíticas o endocíticas

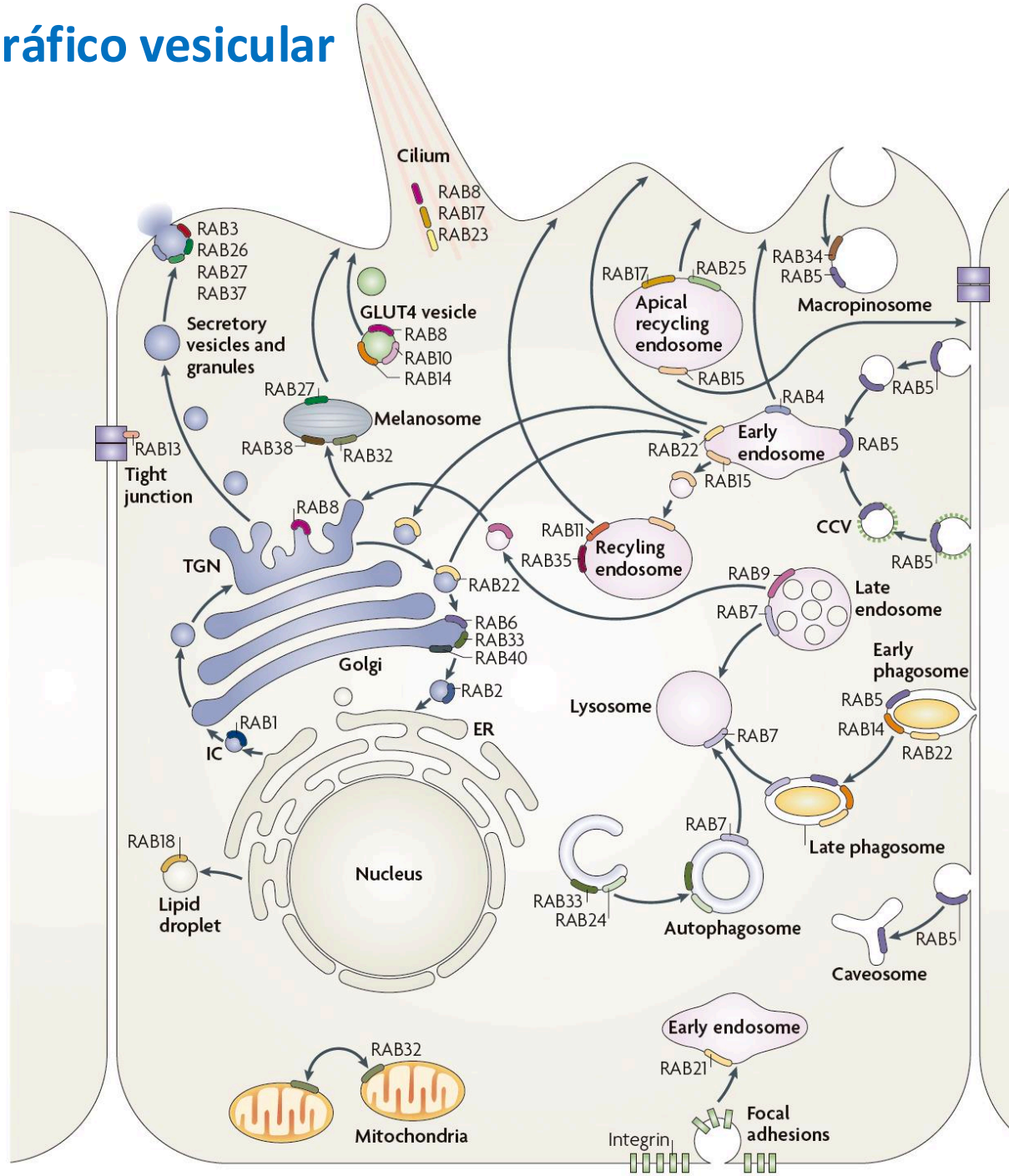
GTPasas RABs: organizadores del tráfico vesicular



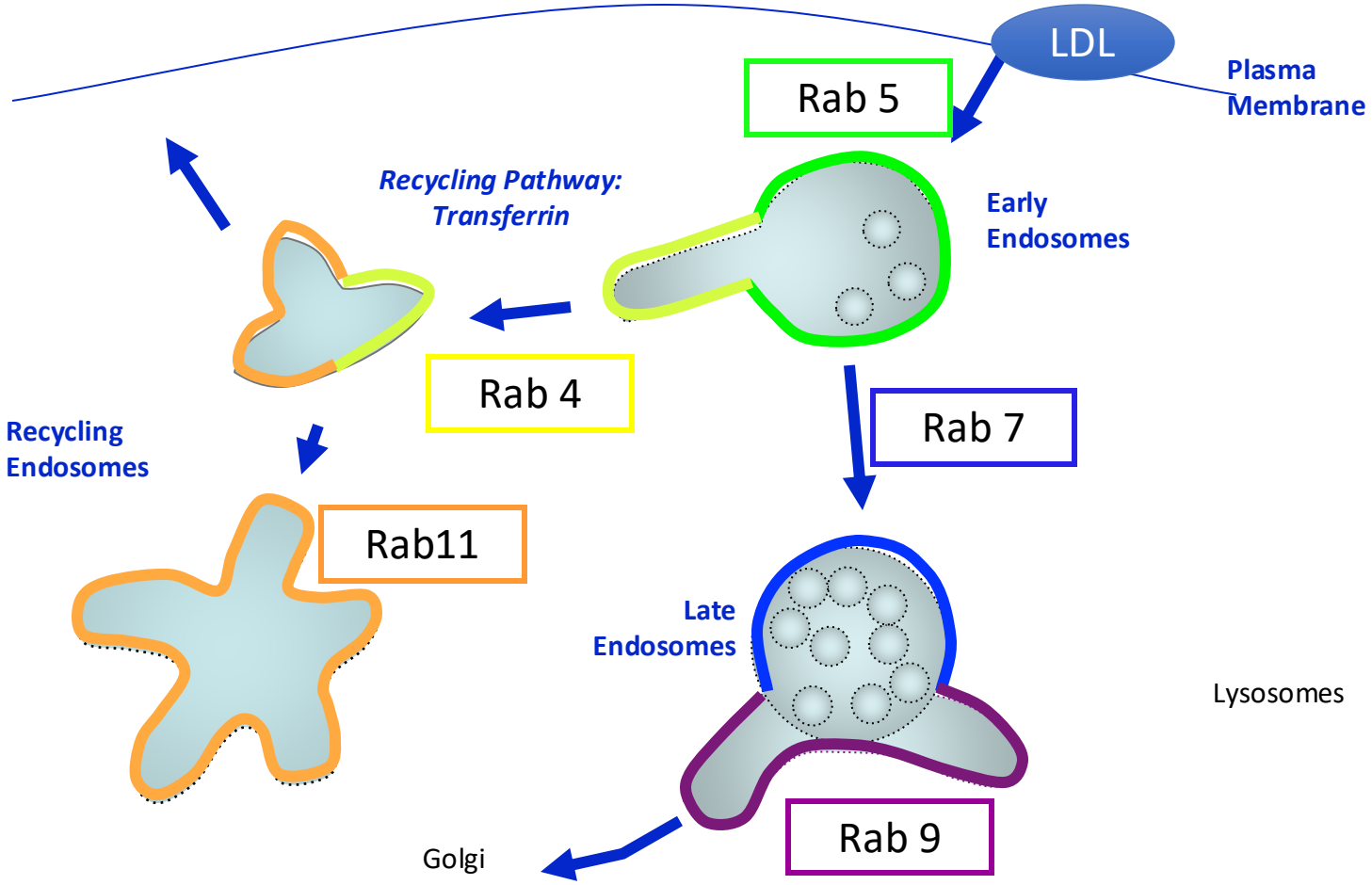
- 60 miembros en el genoma humano
- Localización organelo-específica
- Parcelan a las membranas en sub-dominios
- Participan en diversas etapas del transporte
- Contribuyen a la especificidad de la fusión entre membranas

GTPasas RABs: organizadores del tráfico vesicular

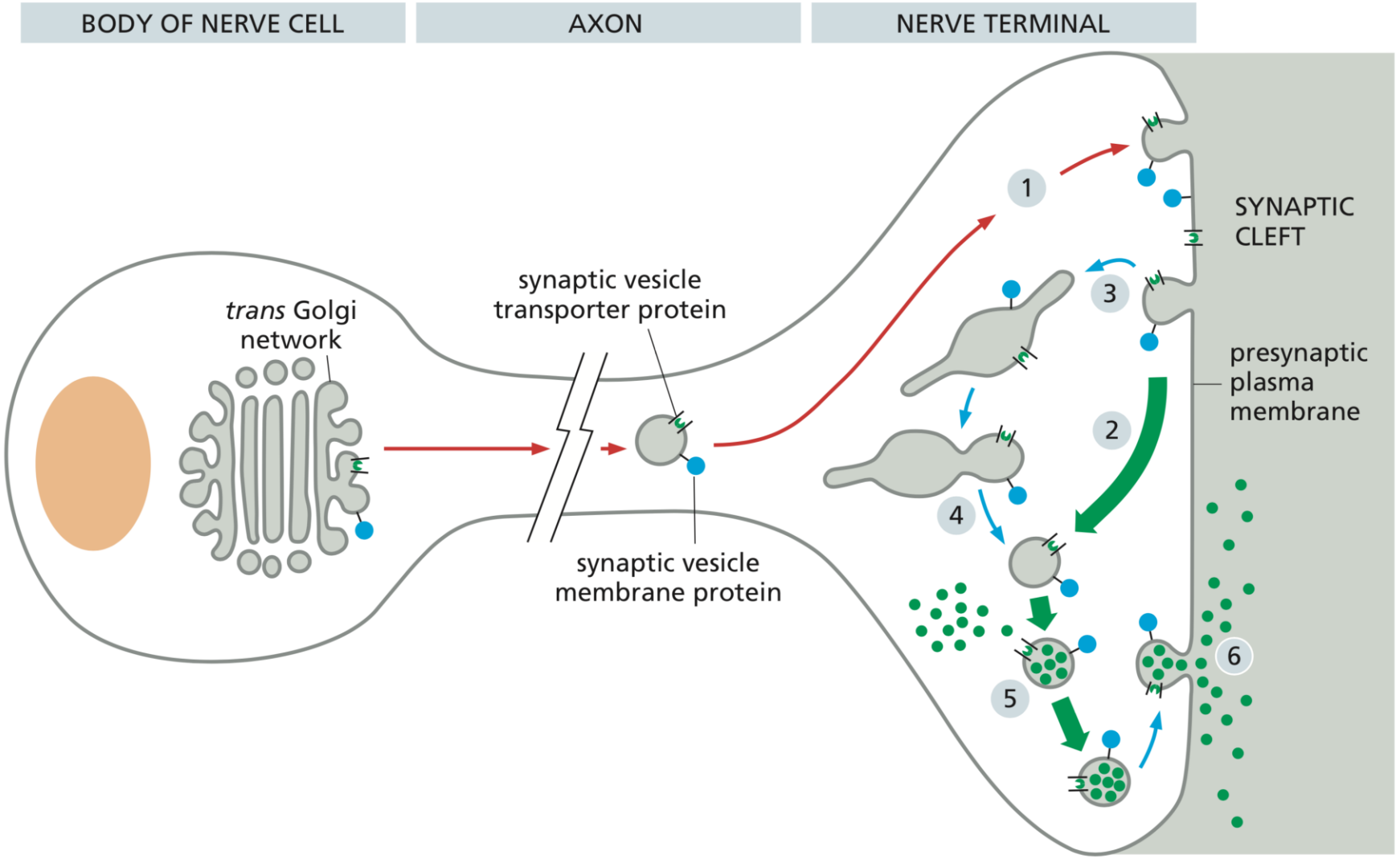
TABLE 13–1 Subcellular Locations of Some Rab Proteins	
Protein	Organelle
Rab1	ER and Golgi complex
Rab2	*cis* Golgi network
Rab3A	Synaptic vesicles, secretory vesicles
Rab4/Rab11	Recycling endosomes
Rab5	Early endosomes, plasma membrane, clathrin-coated vesicles
Rab6	Medial and *trans* Golgi cisternae
Rab7	Late endosomes
Rab8	Cilia
Rab9	Late endosomes, *trans* Golgi network



Transporte secuencial a través de endosomas que tienen distintos dominios marcados por GTPasas Rabs



Transporte de vesículas sinápticas



1 DELIVERY OF SYNAPTIC VESICLE MEMBRANE COMPONENTS TO PRESYNAPTIC PLASMA MEMBRANE

2 ENDOCYTOSIS OF SYNAPTIC VESICLE MEMBRANE COMPONENTS TO FORM NEW SYNAPTIC VESICLES DIRECTLY

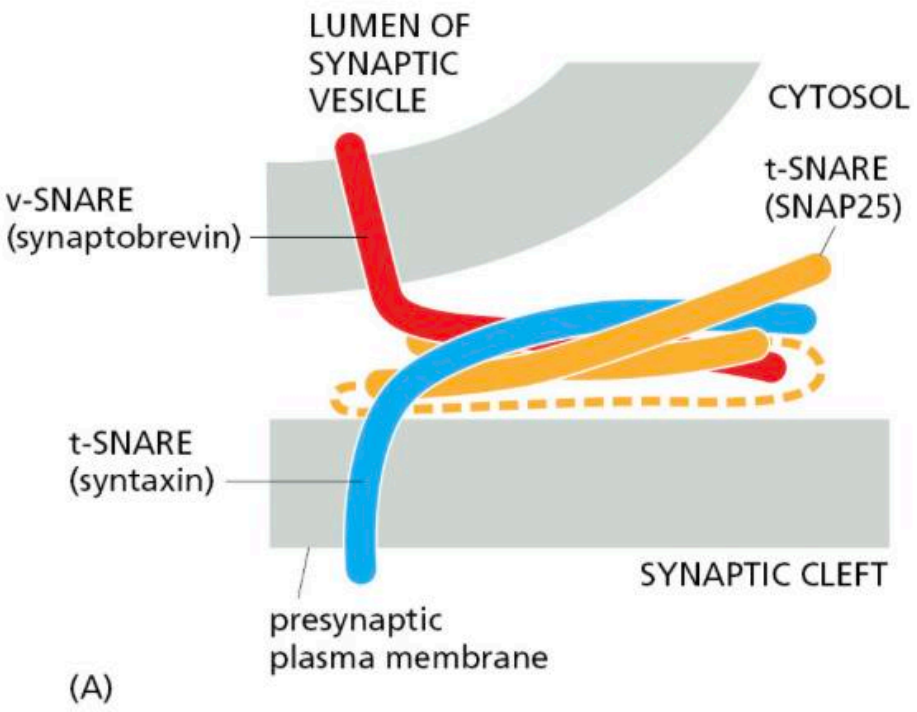
3 ENDOCYTOSIS OF SYNAPTIC VESICLE MEMBRANE COMPONENTS AND DELIVERY TO ENDOSOME

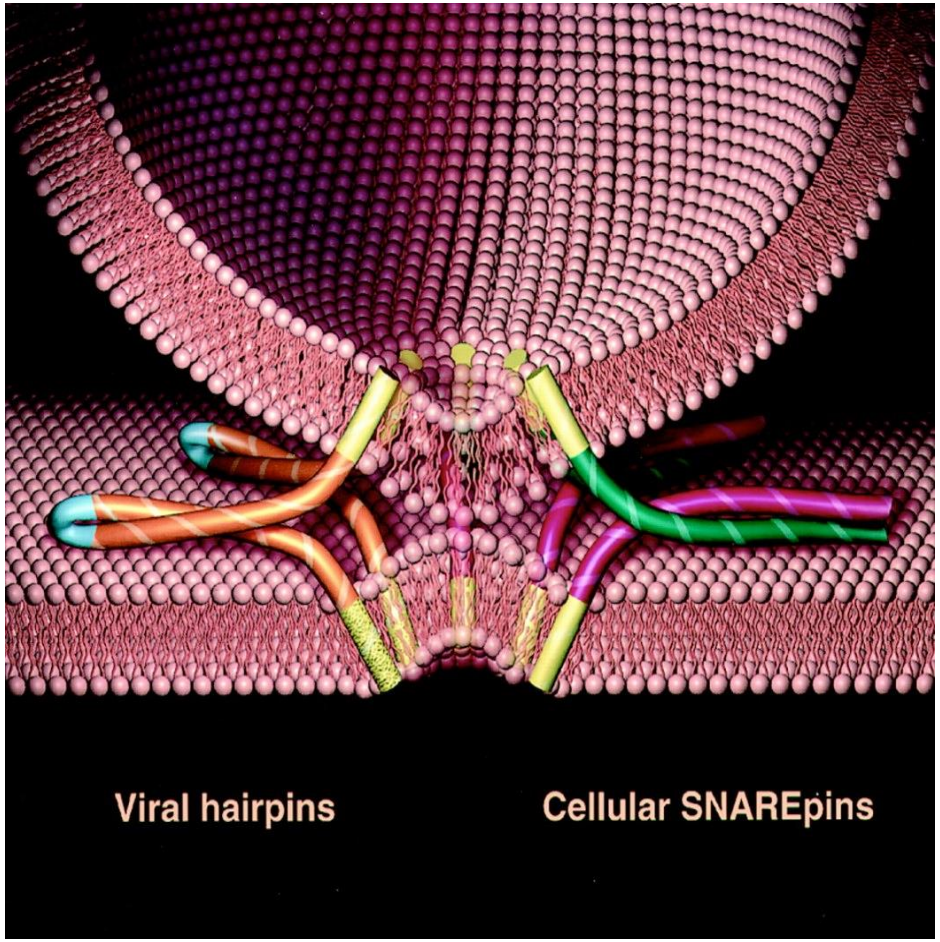
4 BUDDING OF SYNAPTIC VESICLE FROM ENDOSOME

5 LOADING OF NEUROTRANSMITTER INTO SYNAPTIC VESICLE

6 SECRETION OF NEUROTRANSMITTER BY EXOCYTOSIS IN RESPONSE TO AN ACTION POTENTIAL

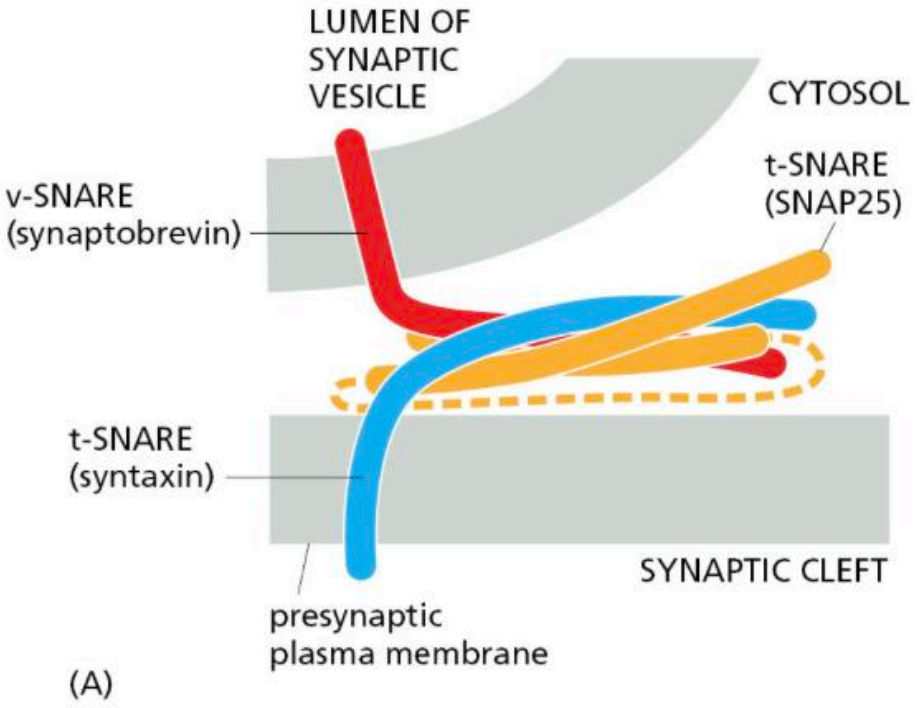
Fusión de vesículas sinápticas y fusión de virus con célula huésped

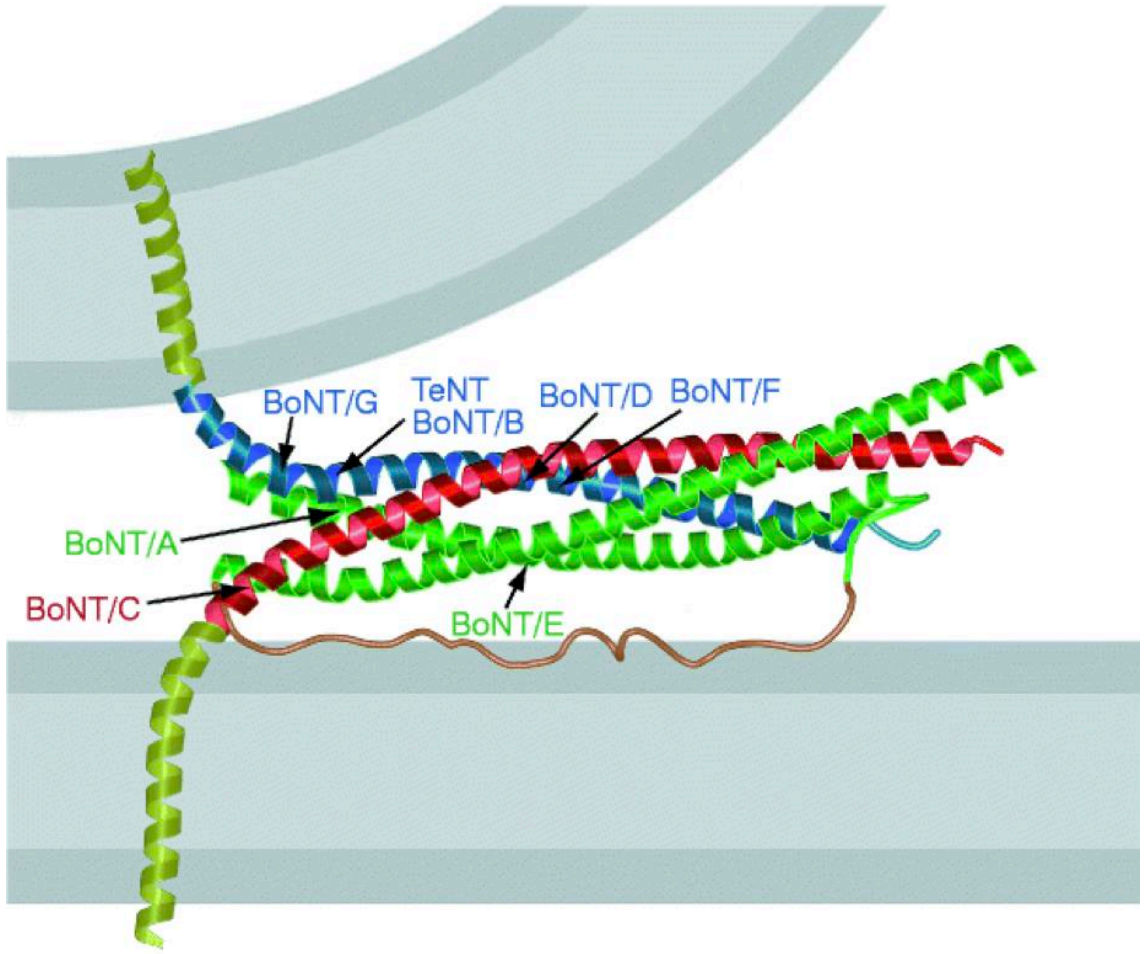




Semejante a proteínas de ciertos virus que inducen fusión entre membranas

Susceptibilidad de SNAREs a toxinas bacterianas





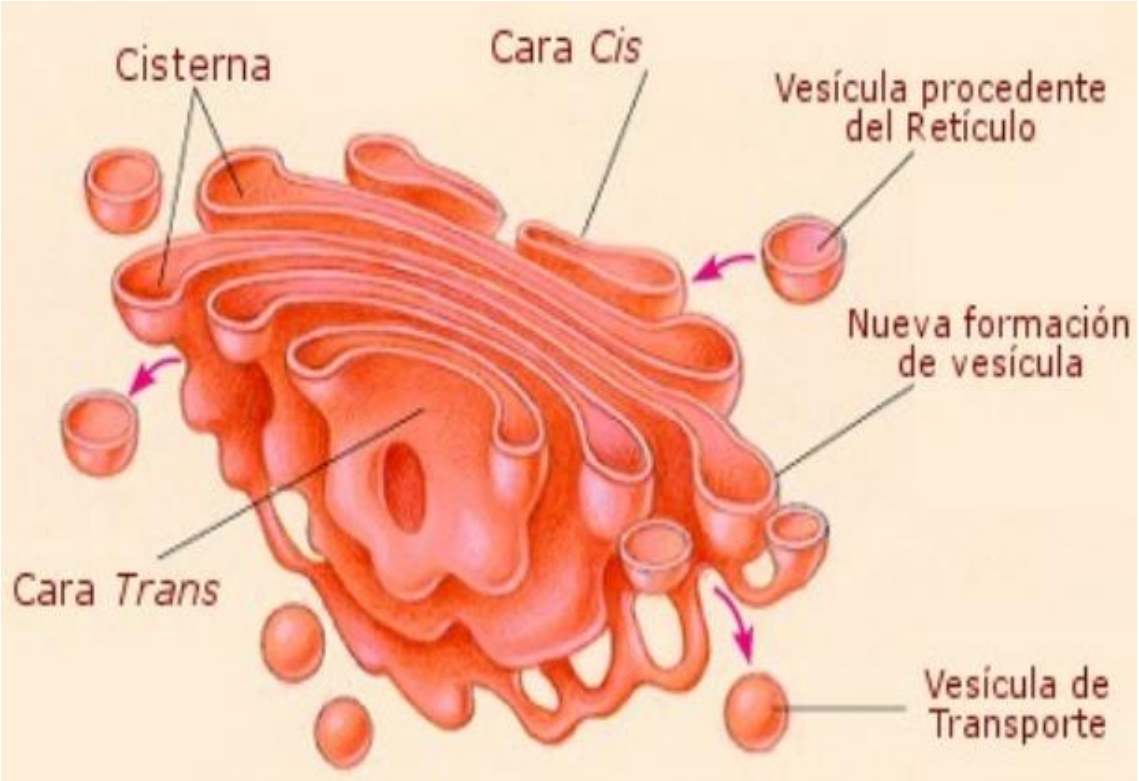
BoNT (toxina botulínica, proteasa):
Proteólisis de SNAP-25. Bloqueo de liberación de acetilcolina

TeNT (toxina tetánica, proteasa): Proteólisis de synaptobrevin

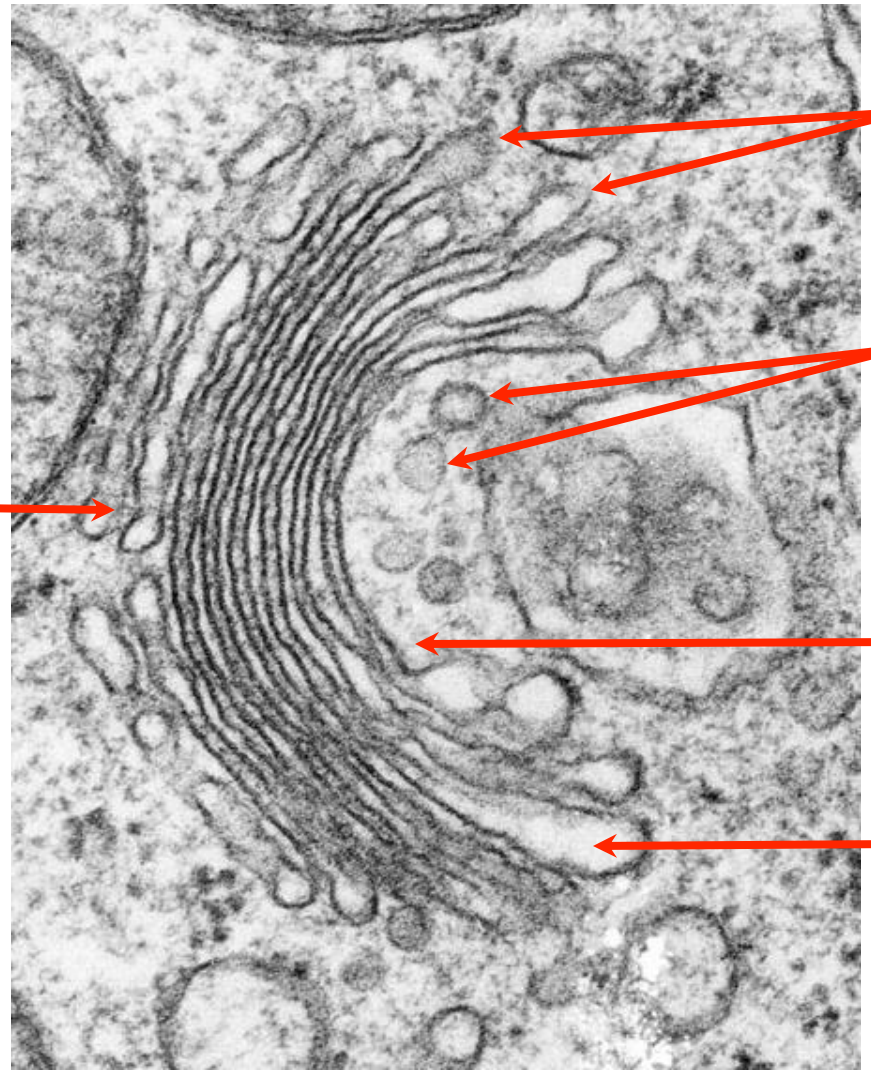
Aparato de Golgi

Posee 3 regiones definidas:

- Región *cis* (de entrada – desde el retículo endoplásmico)
- Región medial (de transición)
- Región *trans* (de salida – hacia la membrana plasmática)
- Pila de cisternas



Estructura y función del aparato de Golgi



Modificación, clasificación (sorting), transporte y distribución (targeting) de macromoléculas provenientes del RE

Tráfico intracelular

Glicosilación: adición o remoción de azúcares a lípidos o proteínas

Maduración enzimática de proteínas:

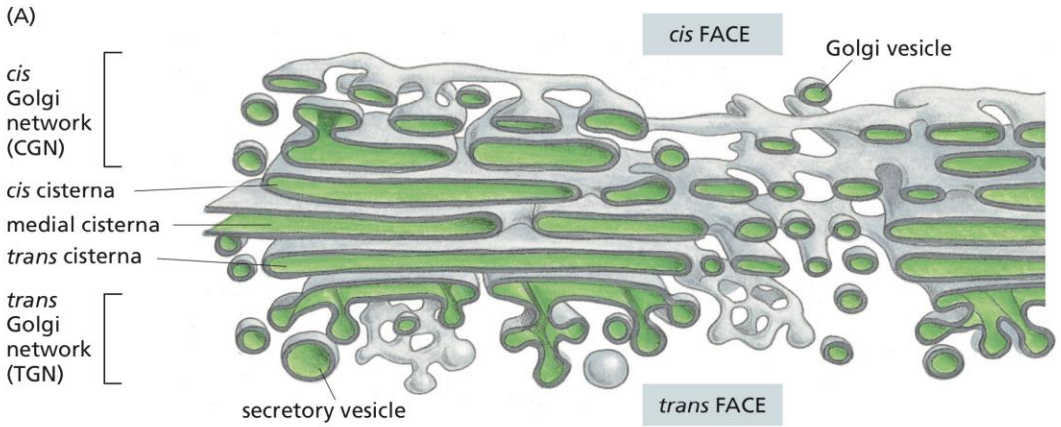
- ***N-glicosilación***
- ***O-glicosilación***
- ***Fosforilación***
- ***Cortes proteolíticos***

Acumulación y secreción de proteínas

Participa en el reciclaje a la membrana plasmática

Formación de lisosomas primarios

Estructura y función del aparato de Golgi

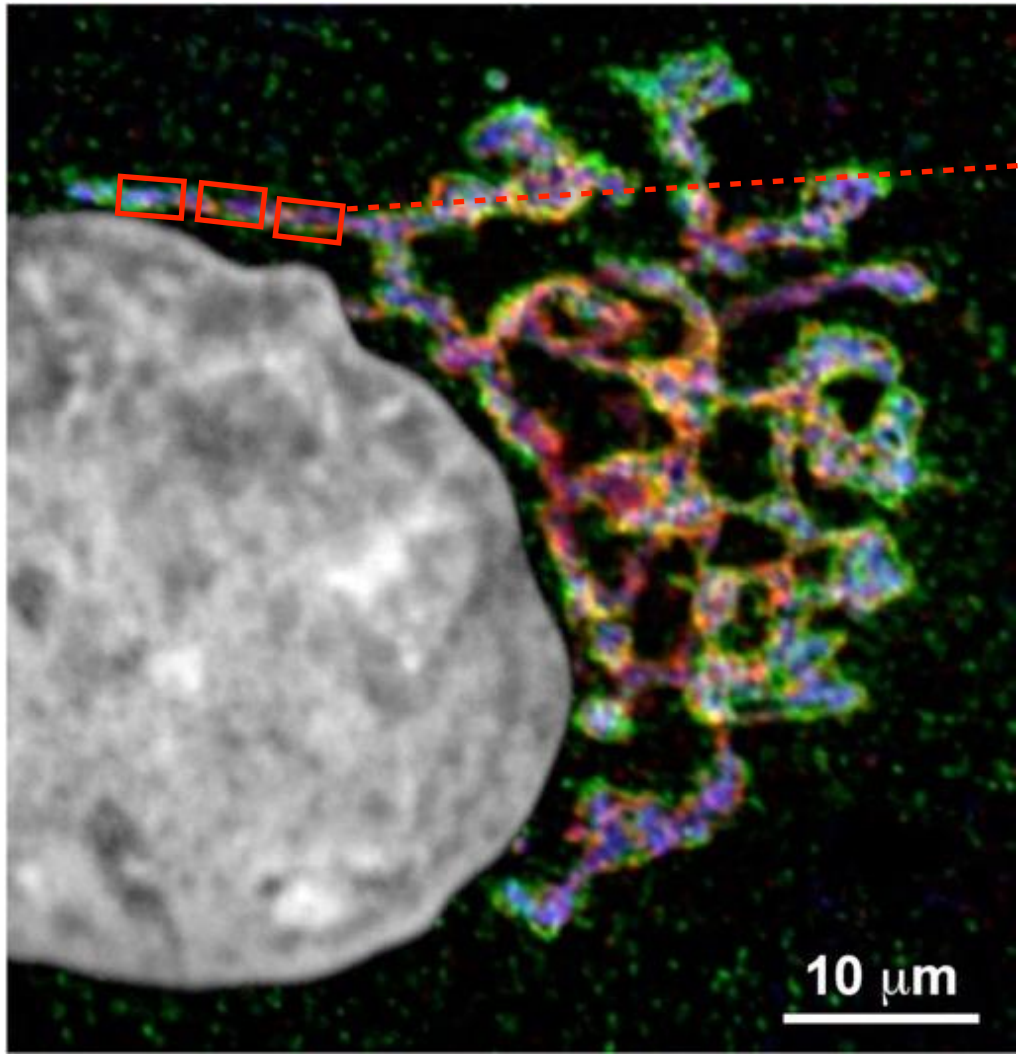


cis

trans

Cisternas apiladas

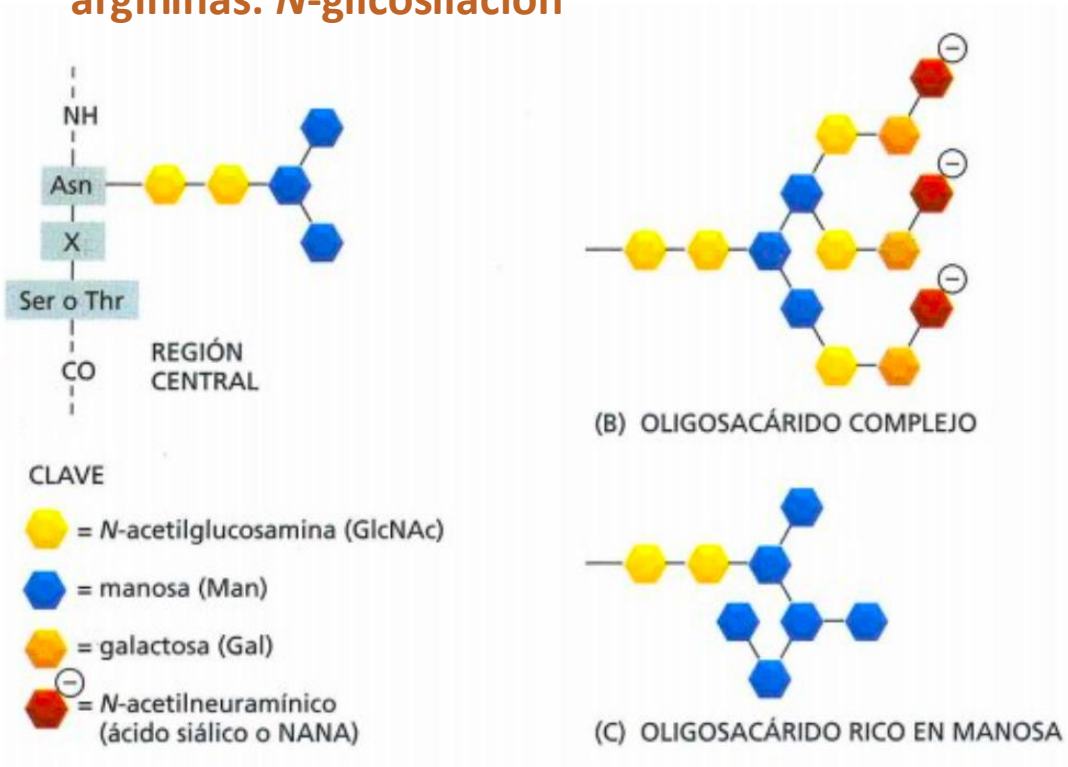
Aparato de Golgi: organización en cinta perinuclear



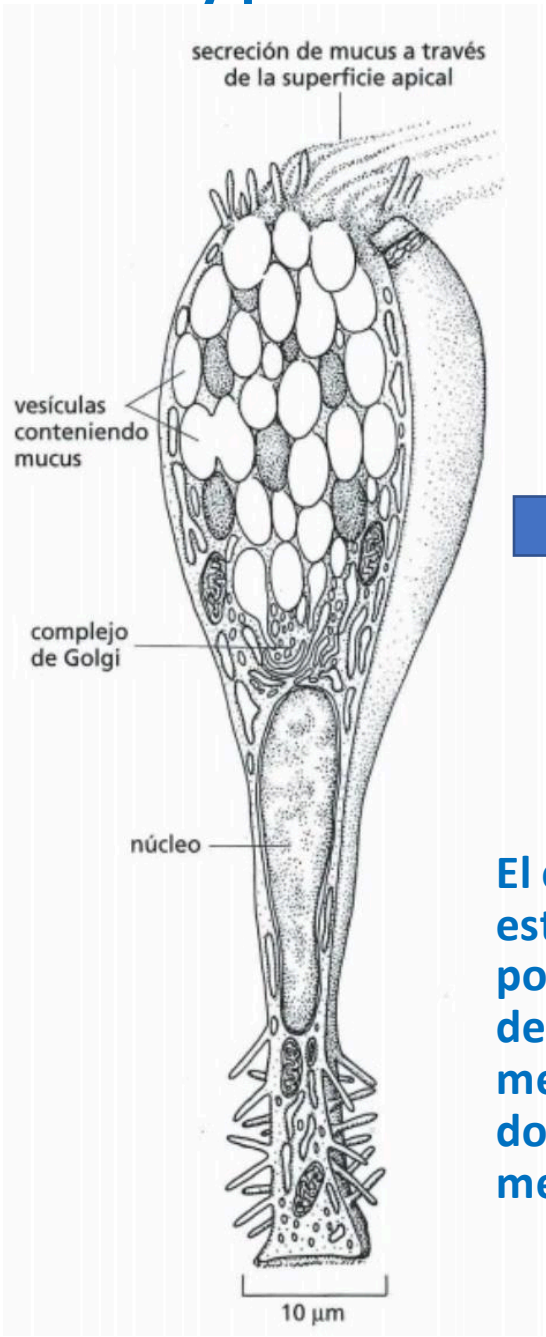
Adición de *N*-glicanos en el RE y procesamiento en el aparato de Golgi

UNIVERSIDAD SAN SEBASTIAN
VOCACIÓN POR LA EXCELENCIA

Las proteínas se pueden glicosilar en argininas: *N*-glicosilación



Los *N*-glicanos pueden ser complejos o ricos en manosa

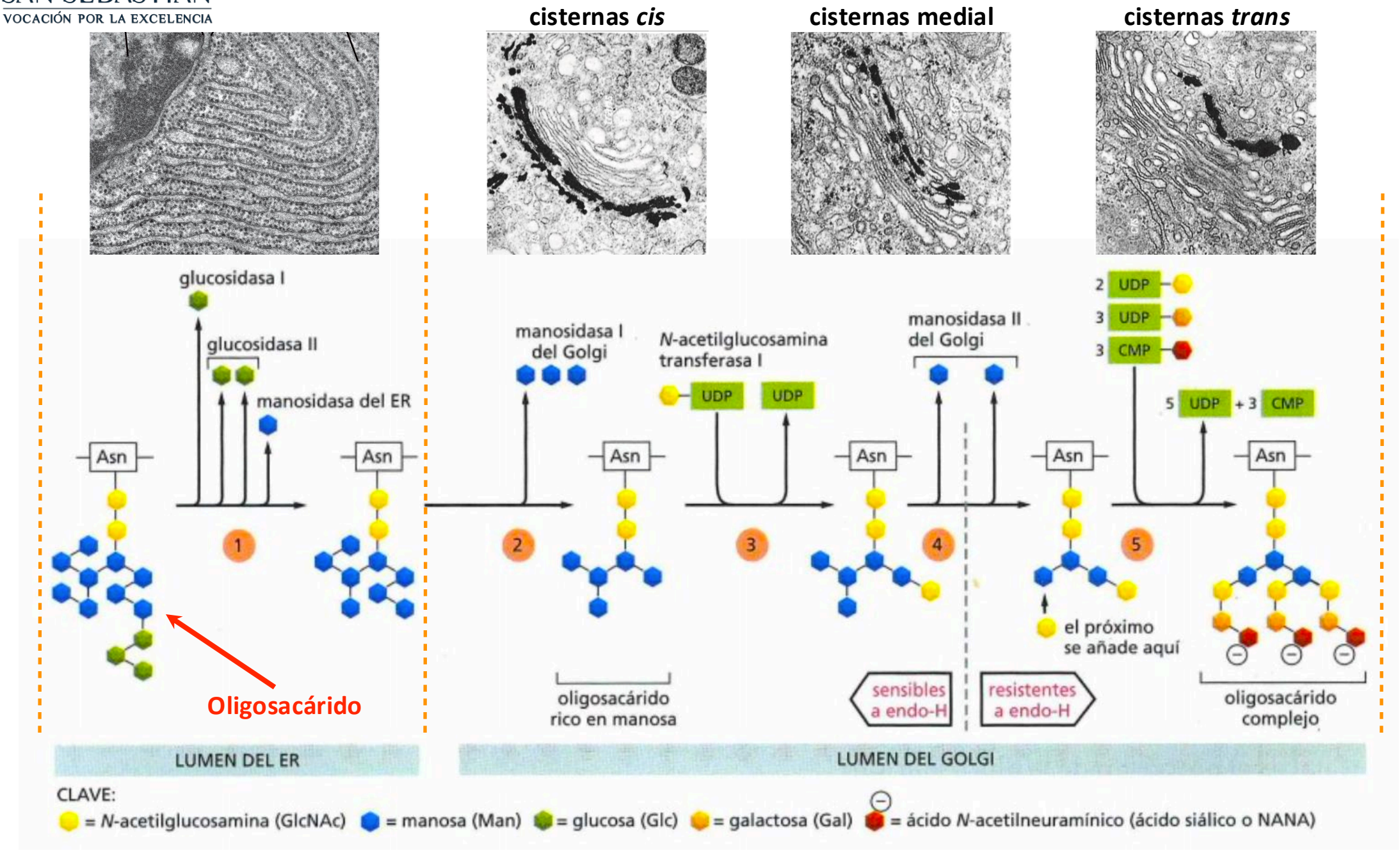


Célula caliciforme del intestino delgado

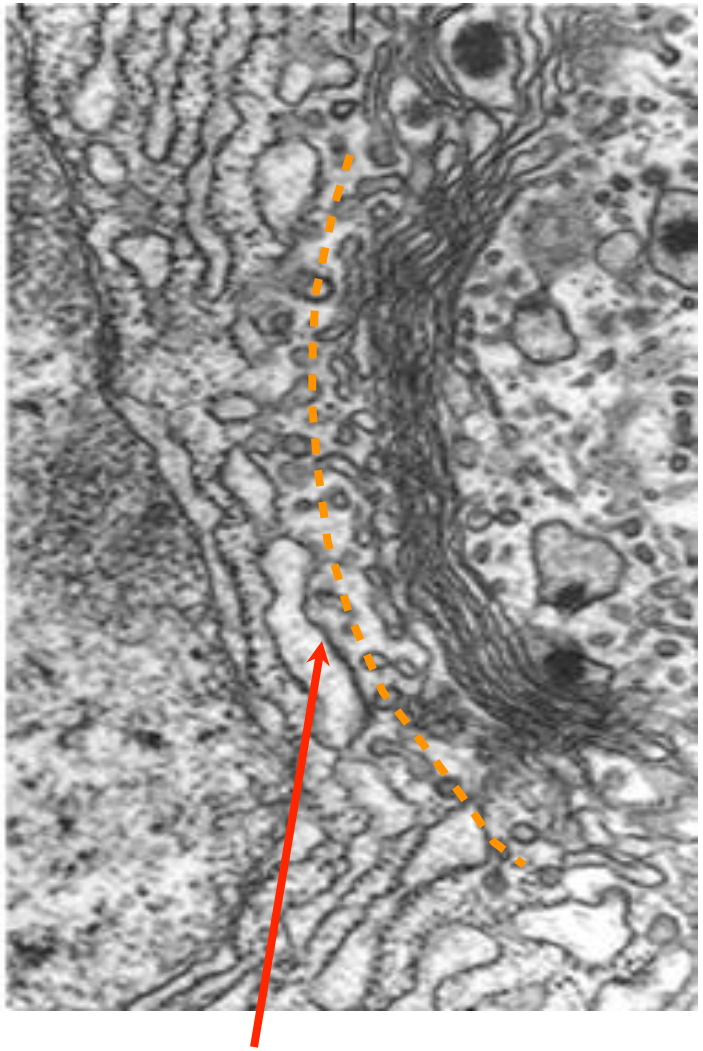
Este tipo de célula está especializada en la secreción de mucus, una mezcla de varias glicoproteínas sintetizadas en el retículo endoplásmico y procesadas en el aparato de Golgi

El complejo de Golgi en estas células está muy polarizado, lo que facilita la descarga del mucus mediante exocitosis en el dominio apical de la membrana plasmática.

Procesamiento de *N*-glicanos en el RE y el aparato de Golgi



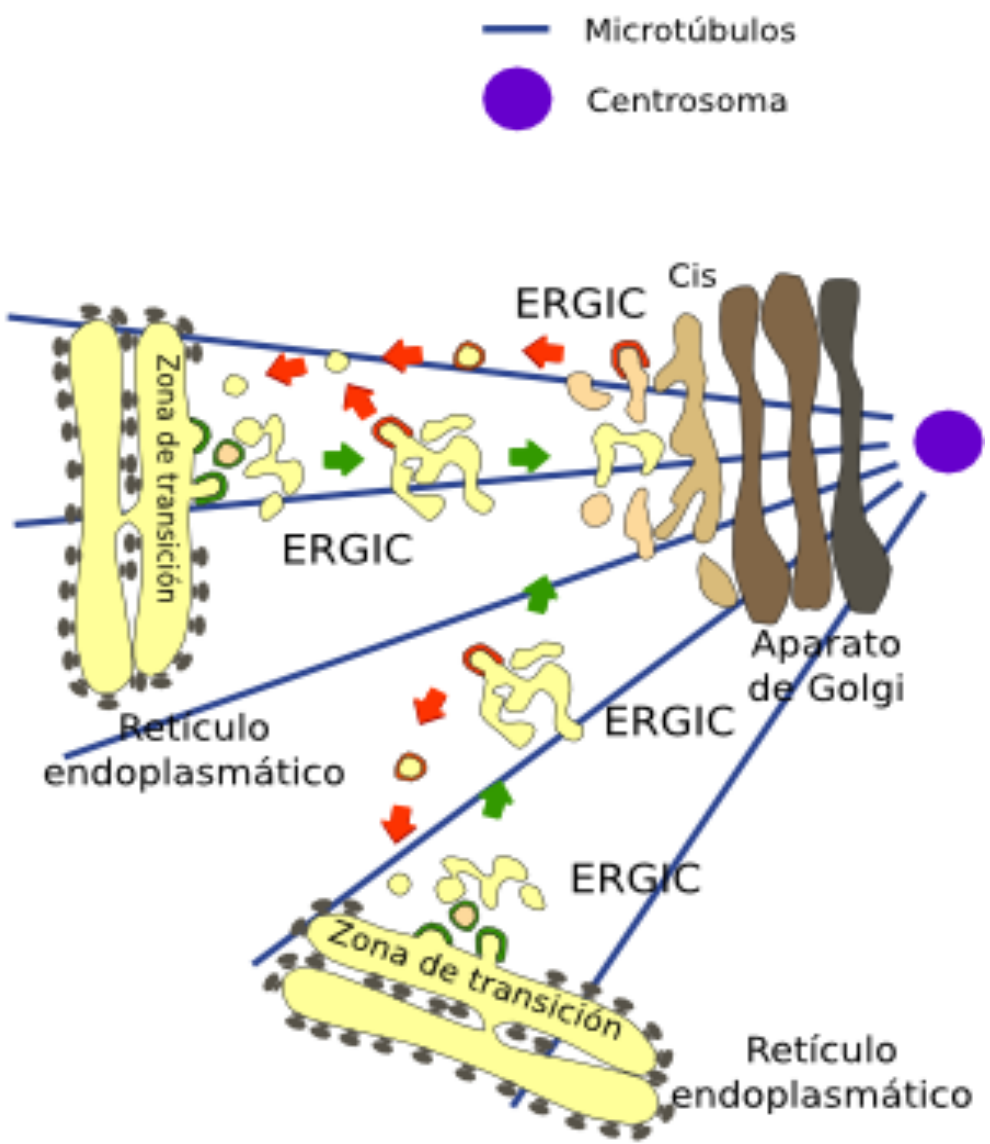
Transporte entre el RE y el Golgi: elementos de transición y compartimento intermedio (ERGIC)



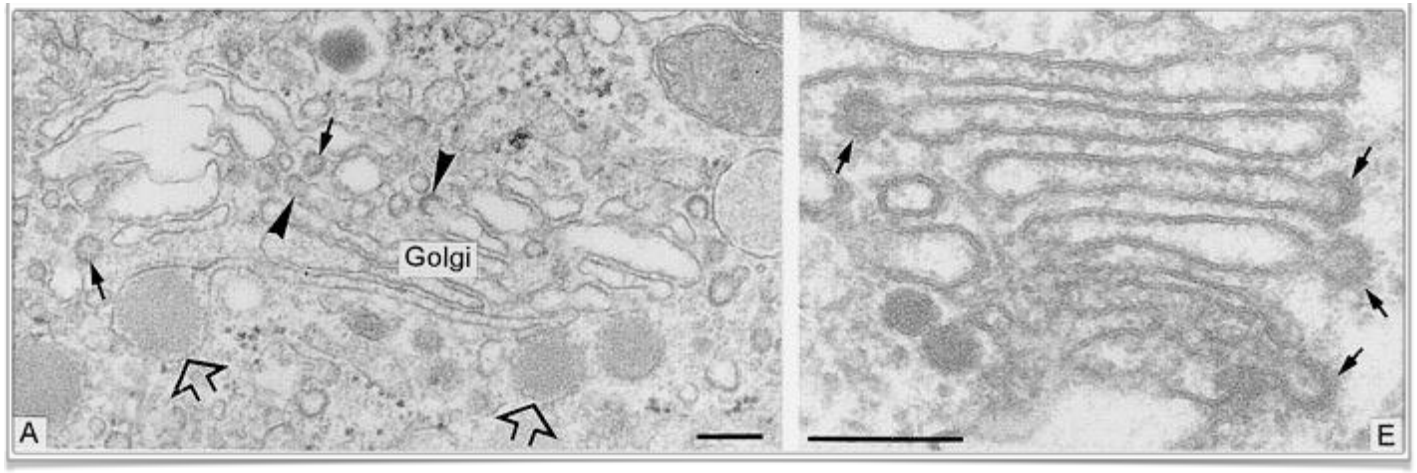
Elementos de transición

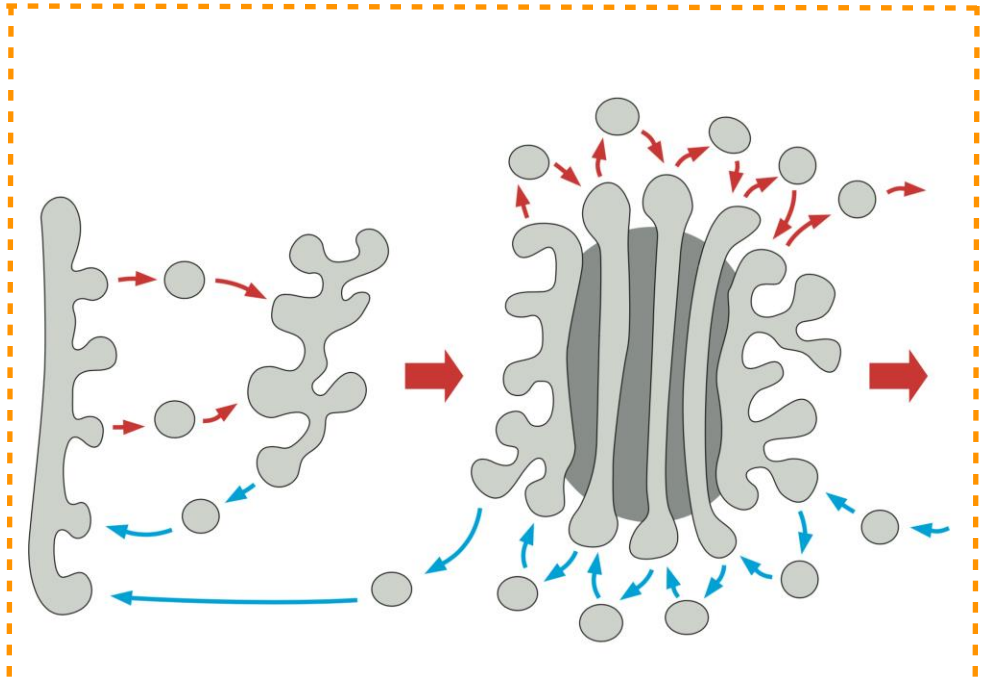
vesicular tubular cluster

ERGIC

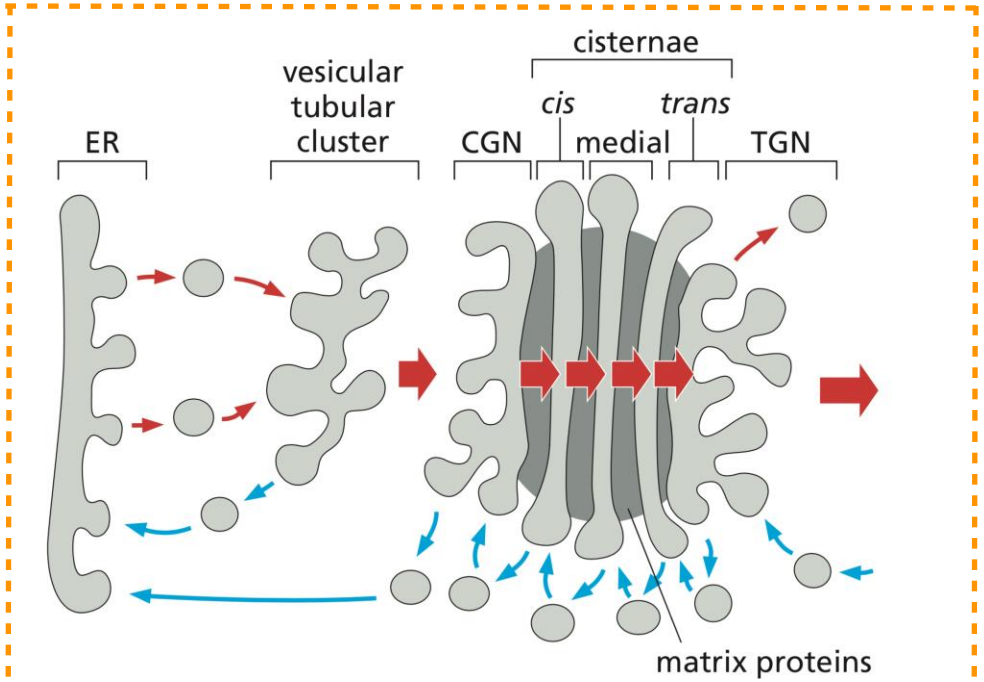


Modelos de transporte intra-Golgi



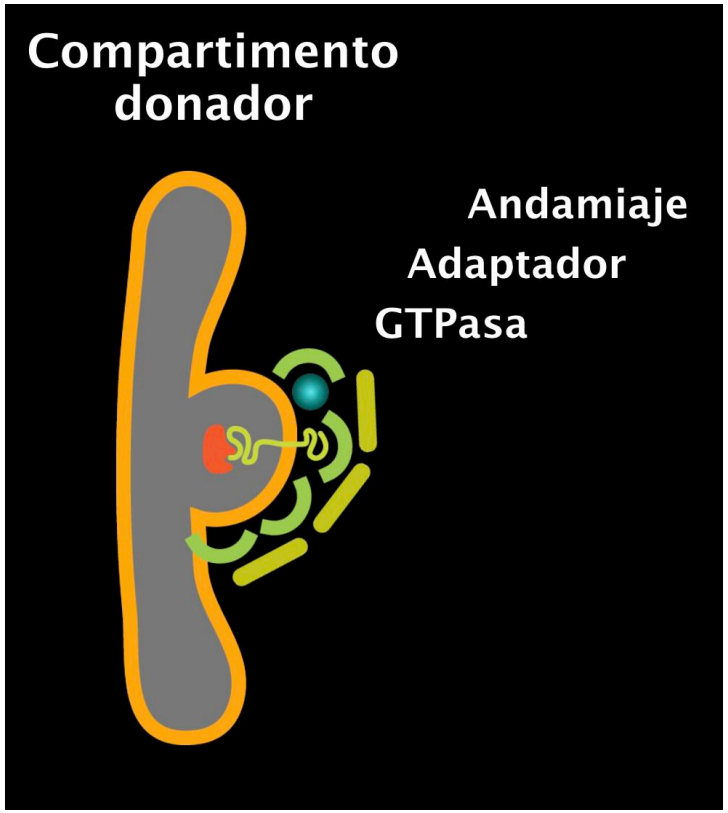


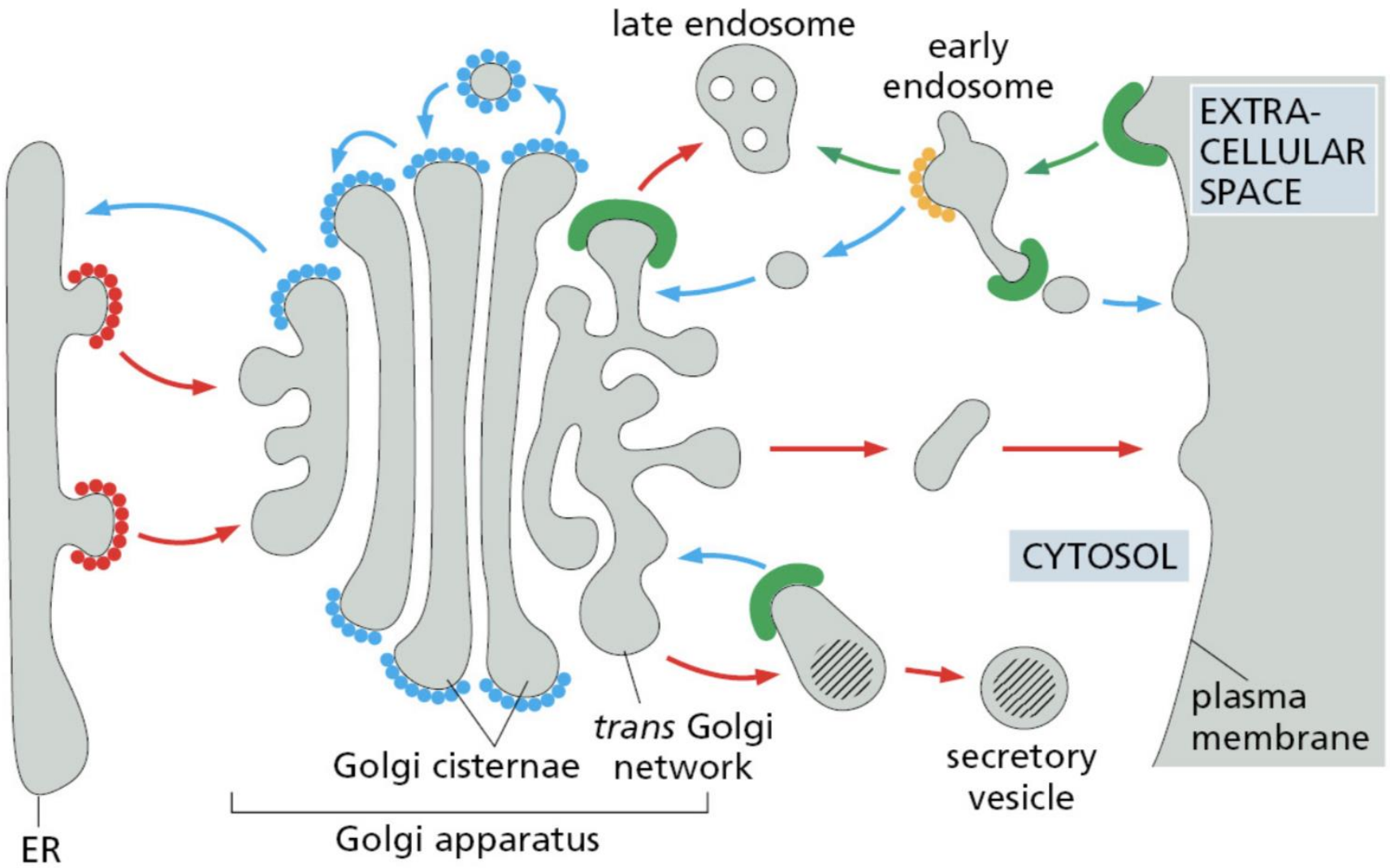
Mecanismo mediado por vesículas



Mecanismo por maduración de cisternas

Proteínas de cubierta de vesículas entre el RE, Golgi y membrana plasmática



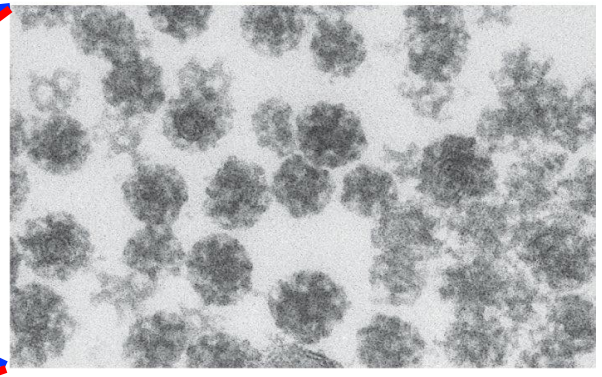


GTPasa:	Sar1	Arf1	Arf1	?
Adaptador:	COP-II { Sec23/Sec24	COP-I { α-COP/β'-COP/ε-COP	AP-1 o AP-3 o AP-4	AP-2
Andamiaje:	Sec13/Sec31	β-COP/δ-COP/γ-COP/ζ-COP	Clatrina	Clatrina

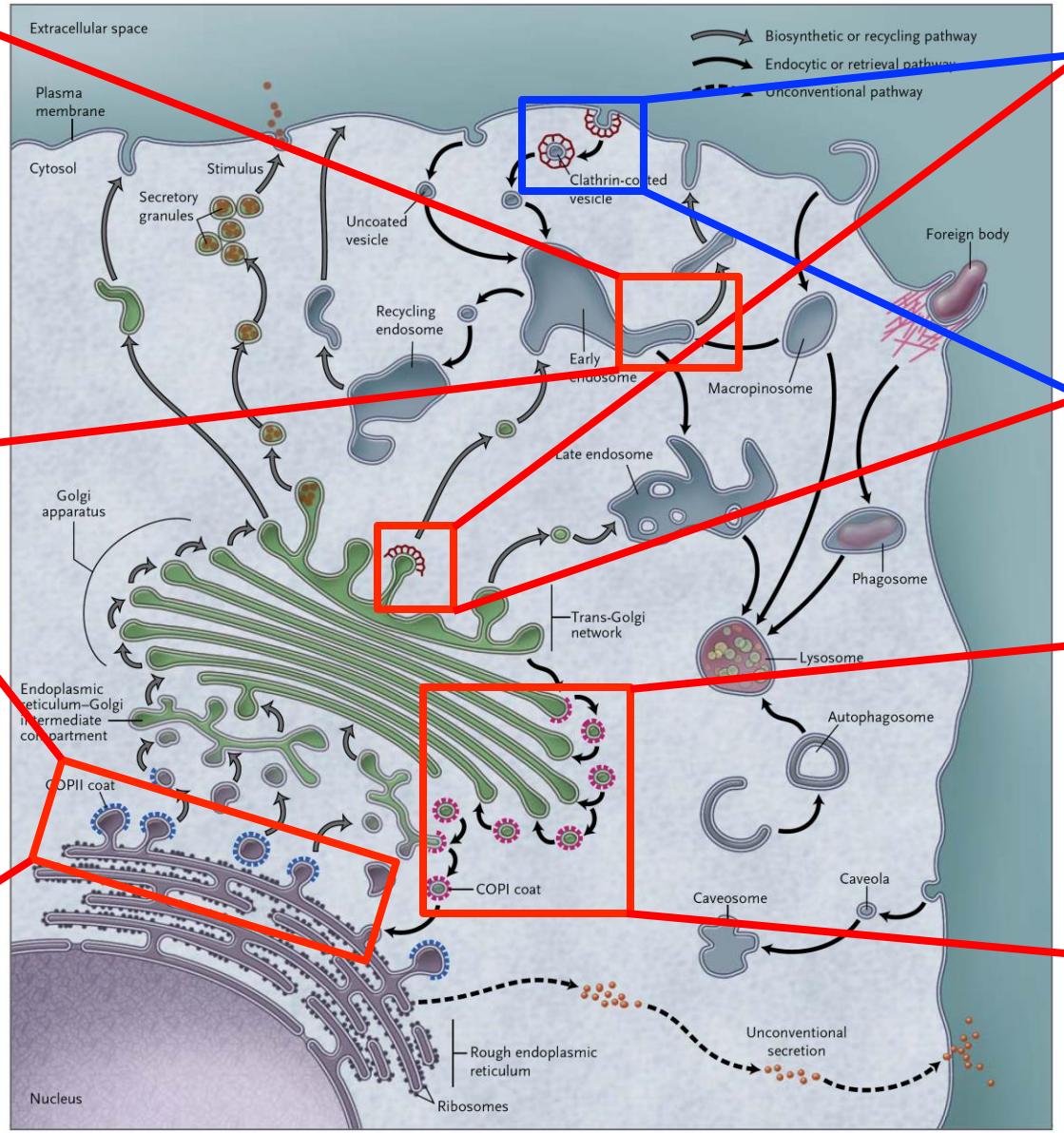
Cubiertas proteicas en la generación de intermediarios de transporte

Retrómero y Retriever

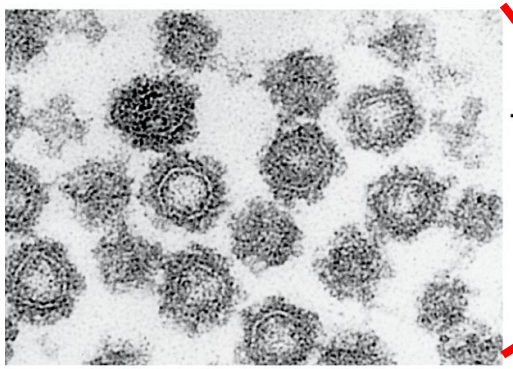
Clatrina



100 nm

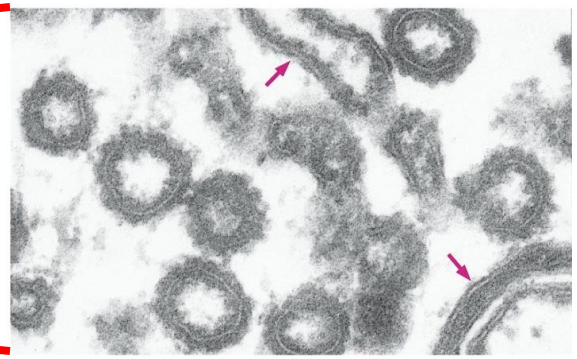


COP-II



100 nm

COP-I



100 nm

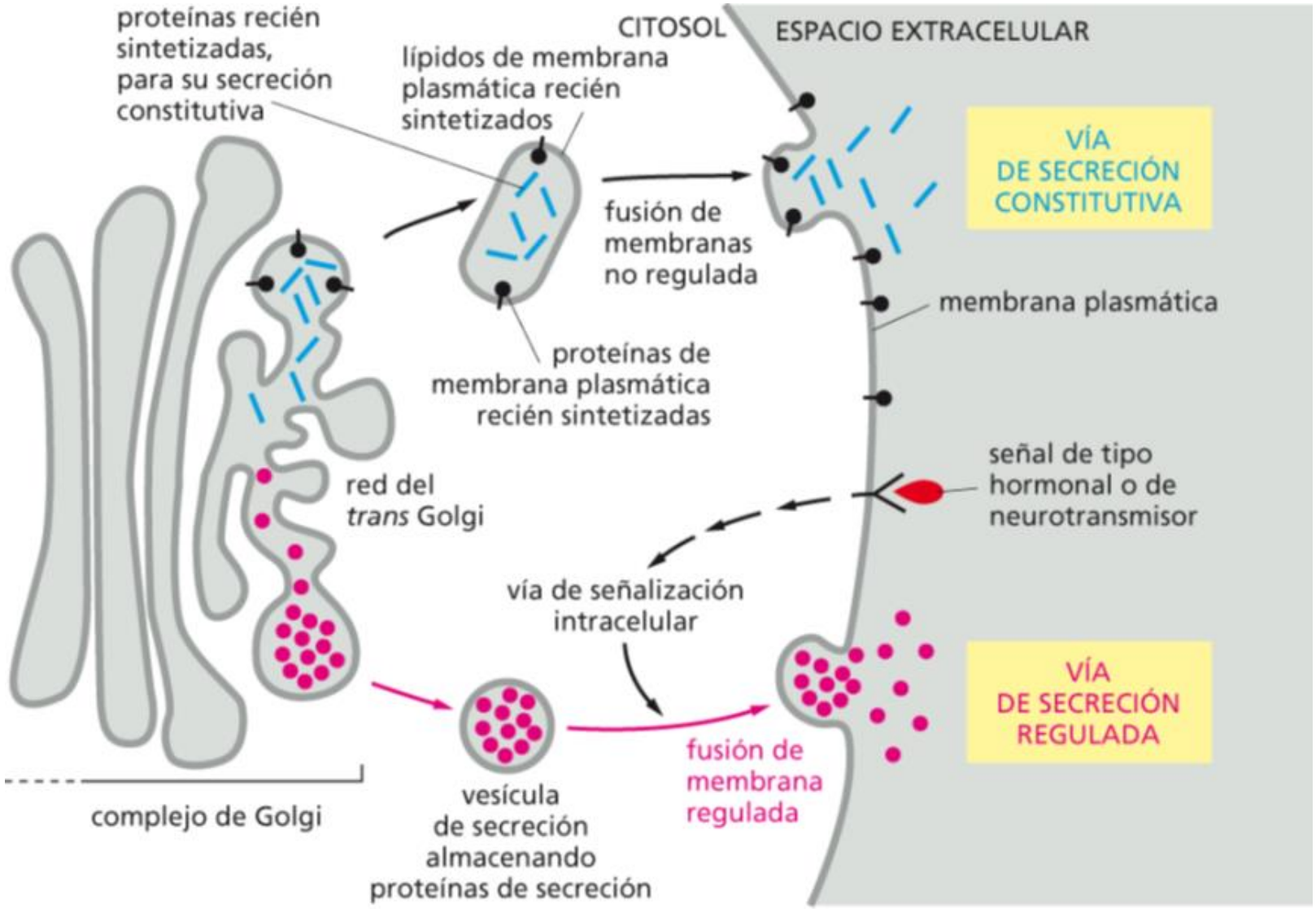
Vías de secreción de proteínas

Secreción constitutiva

- Todo tipo de células
- Células secretoras especializadas (hepatocitos, células plasmáticas)
- No utiliza gránulos de secreción y la cantidad secretada depende de los niveles de síntesis

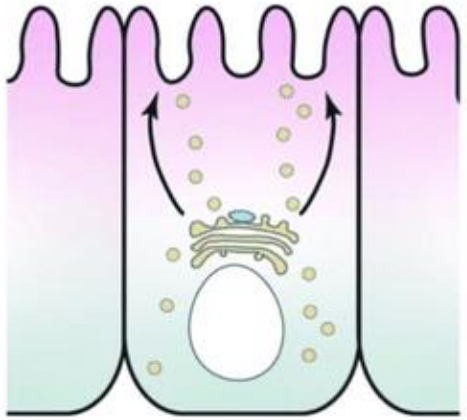
Secreción regulada

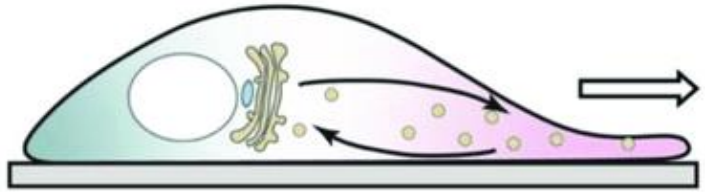
- Células exocrinas y endocrinas
- Empaquetan proteínas en gránulos de secreción que descargan al recibir un estímulo



Vías de secreción de proteínas: células con fenotipo polarizado

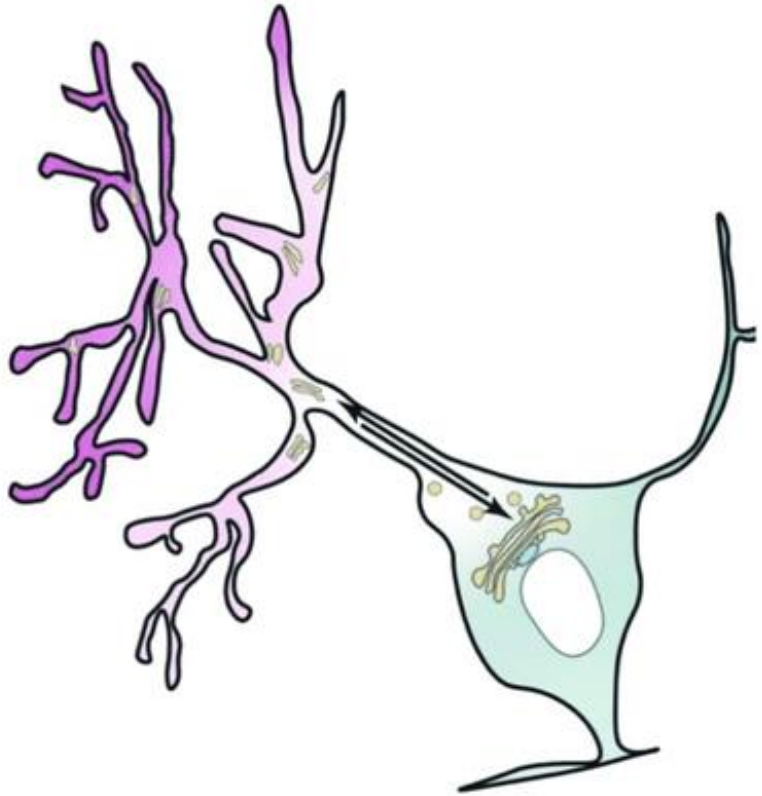
Células epiteliales
polaridad apical-basalateral



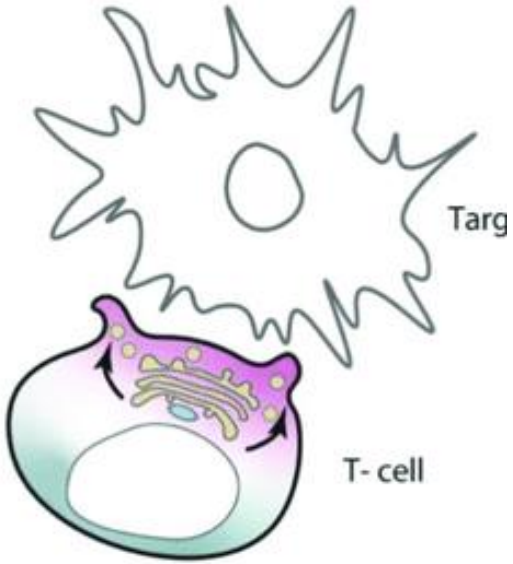


Migración: frente-retaguardia

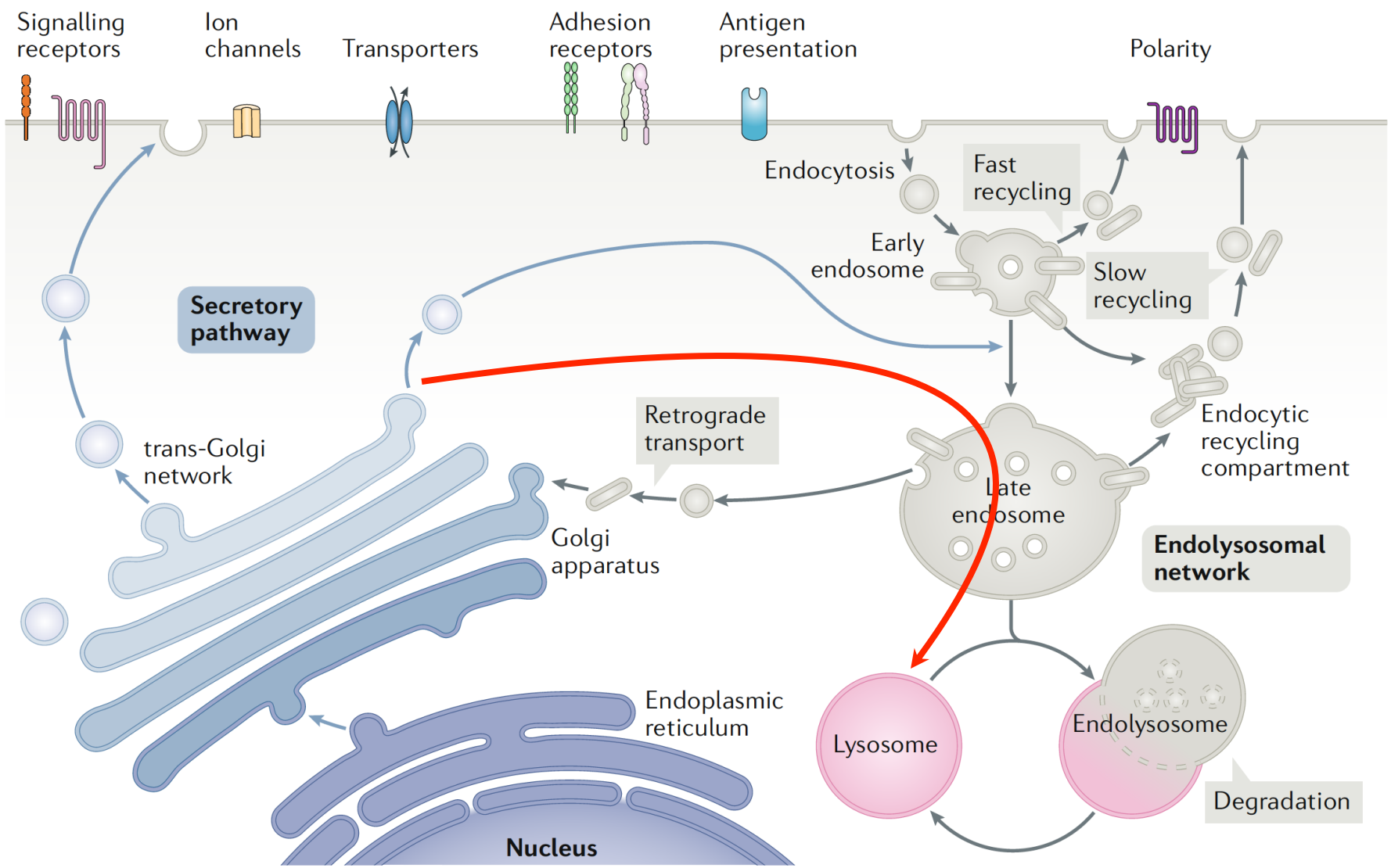
Polaridad neuronal
dendritas-axón



Activación de
células T

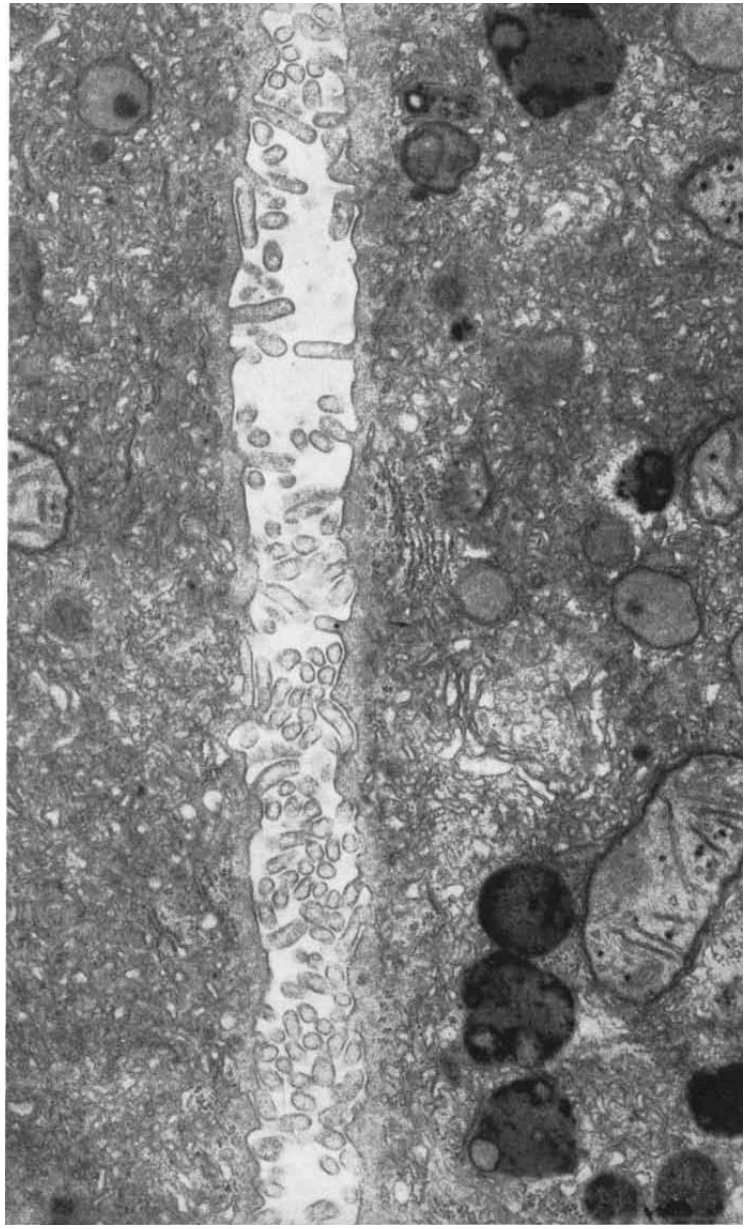


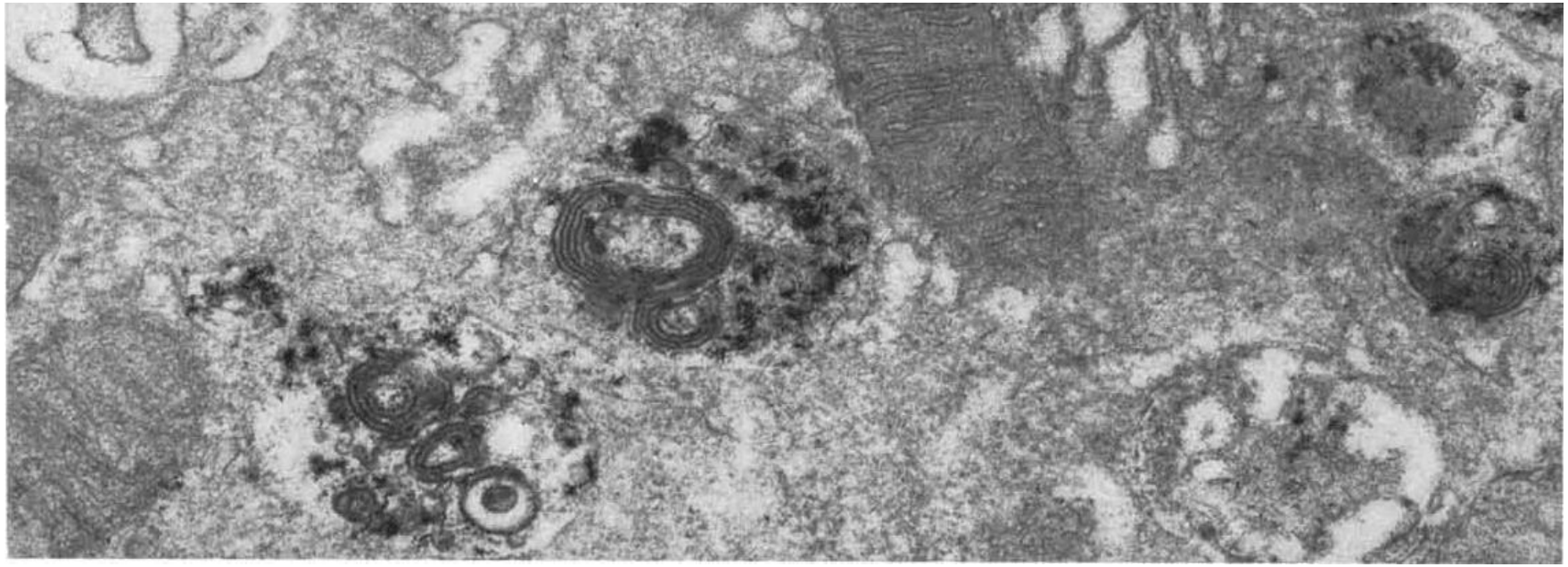
Transporte de hidrolasas desde el Golgi a lisosomas

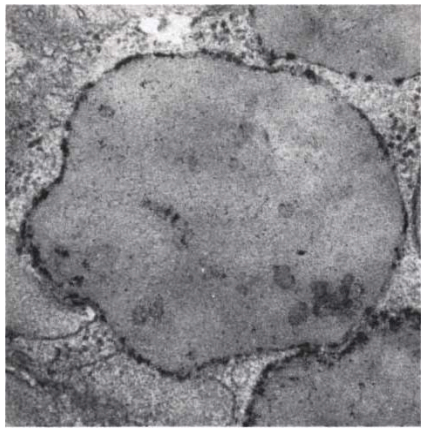


Lisosomas: vacuolas digestivas y cuerpos residuales

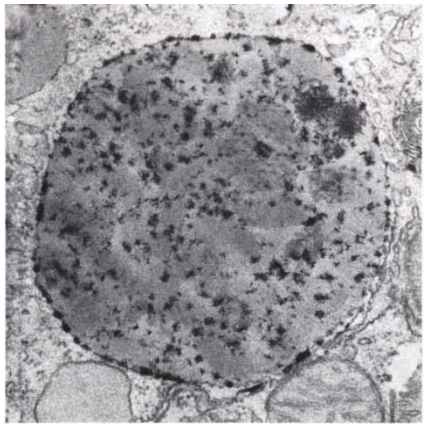
Hepatocitos



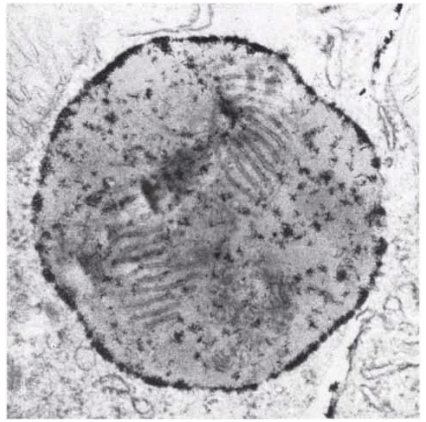




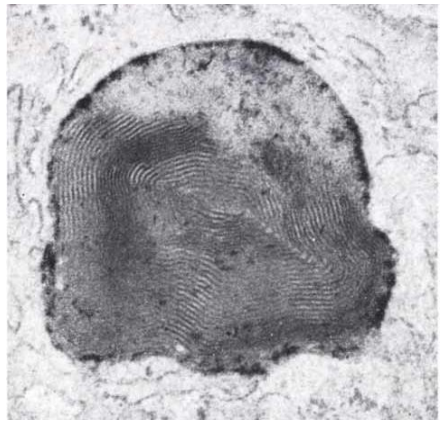
Lisosoma



Degradación de hemoglobina

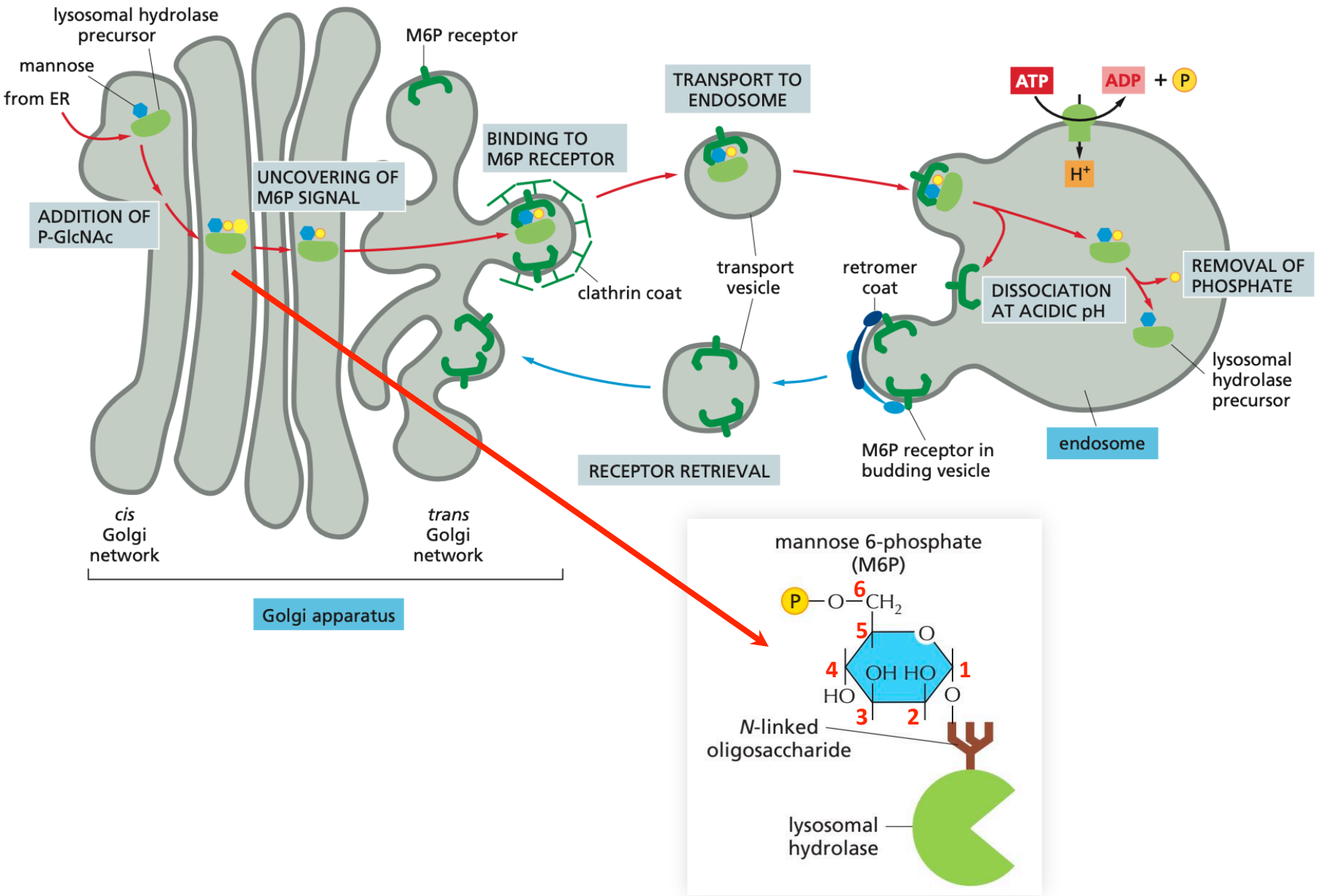


Lisosoma con restos de mitocondria

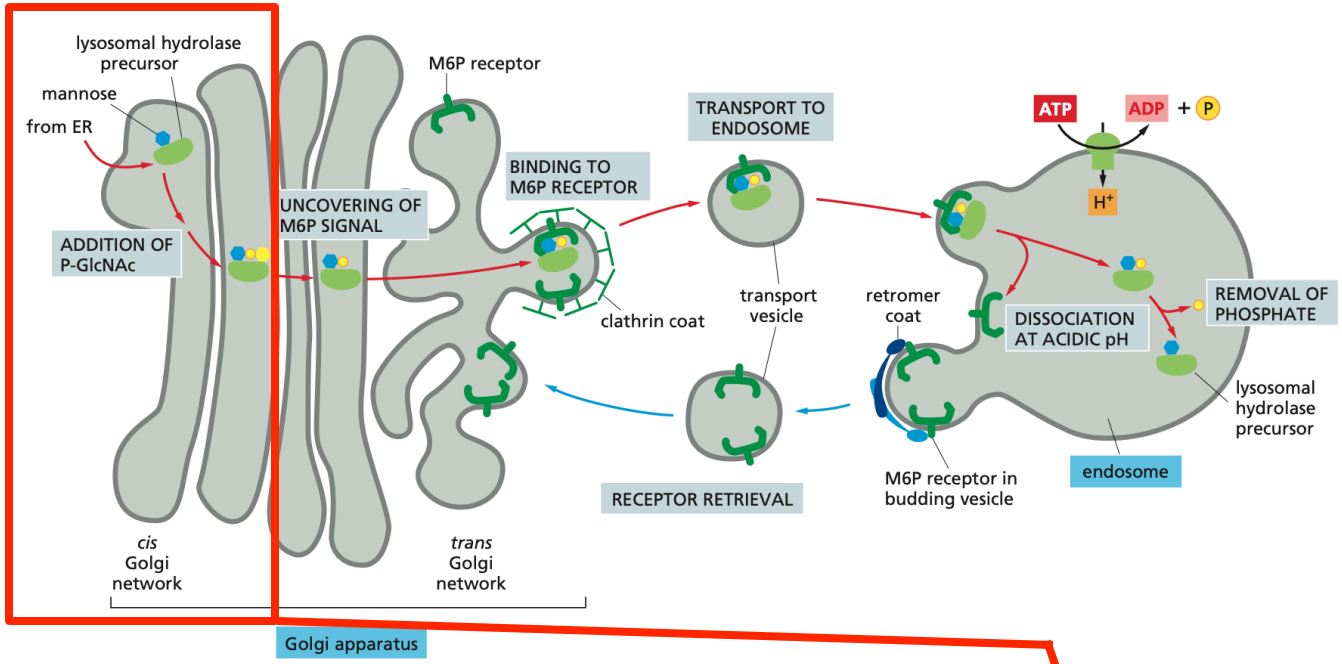


Cuerpo residual con material no digerido formando multicapas

Transporte de hidrolasas lisosomales: señal de manosa 6-fosfato

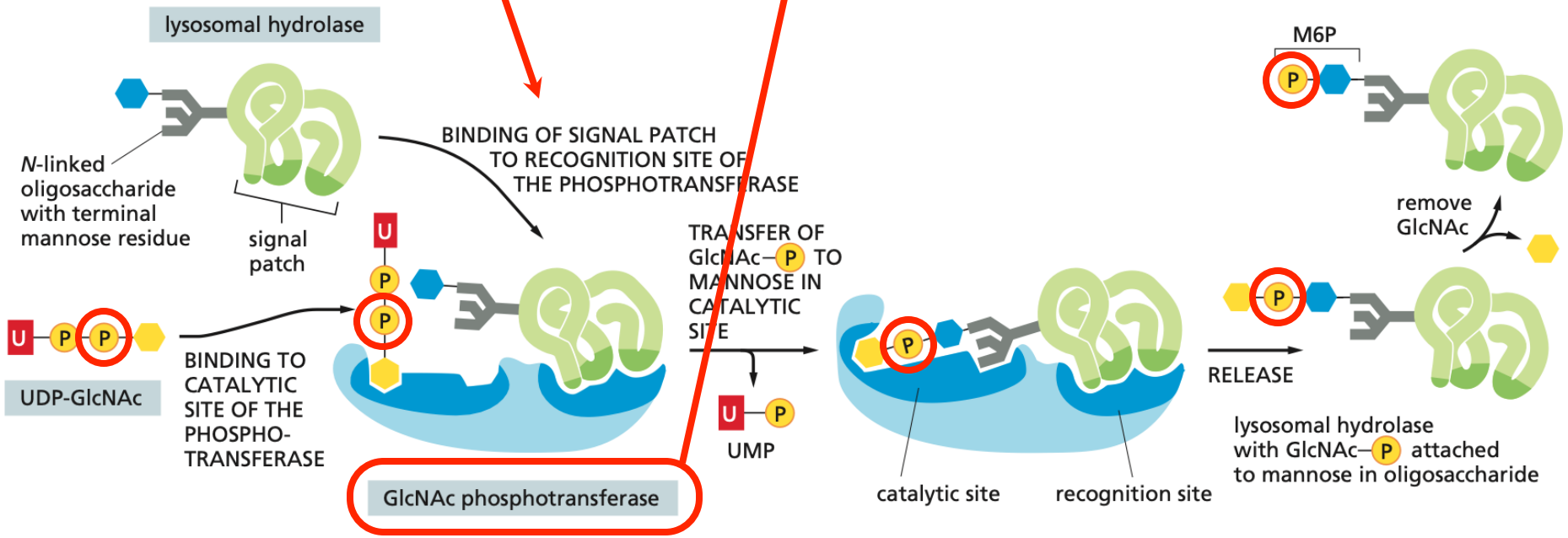


Transporte de hidrolasas lisosomales: señal de manosa 6-fosfato

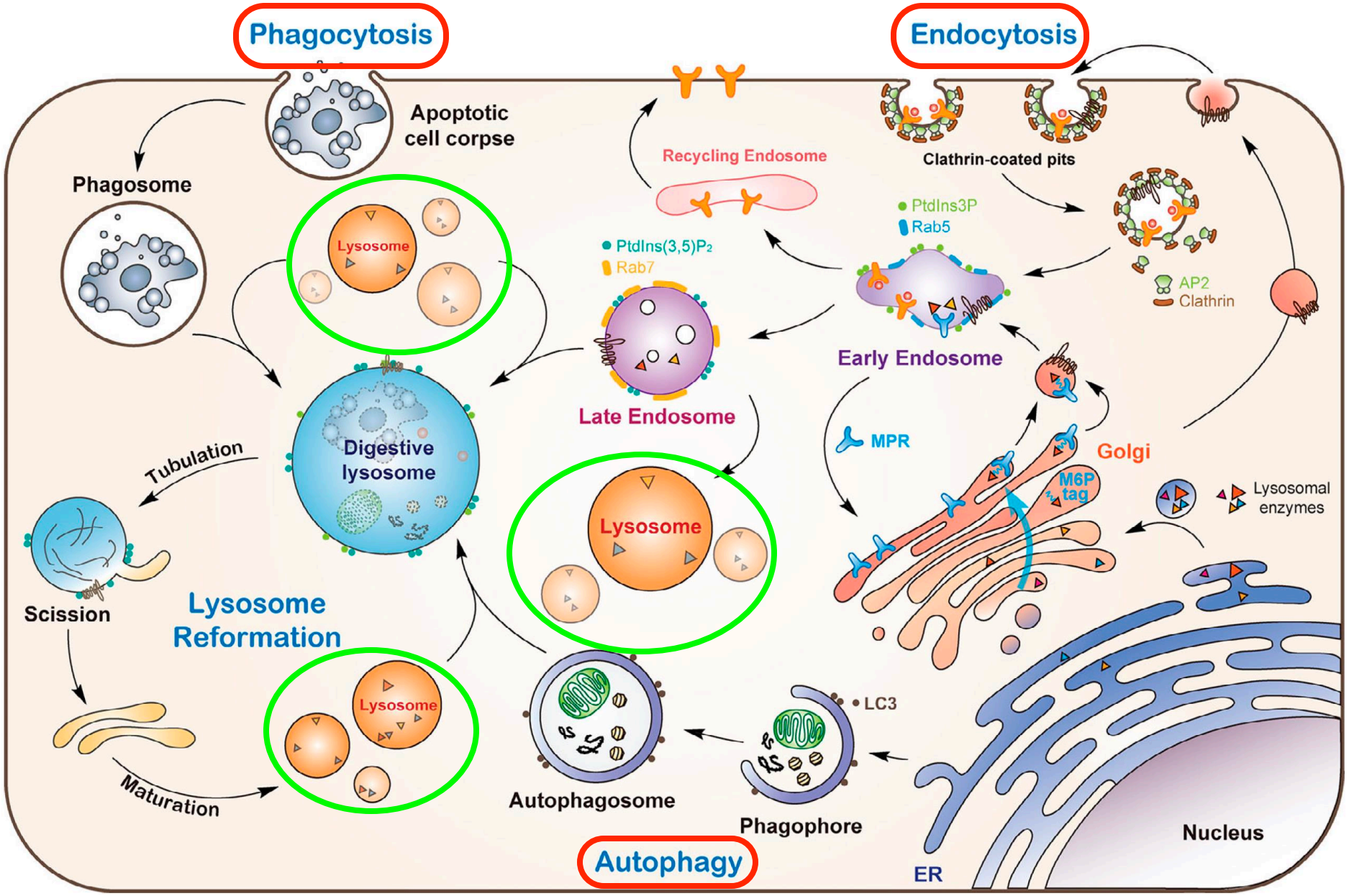


Mutación
Pérdida de Función

Mucolipidosis
Secreción de enzimas lisosomales



Los lisosomas reciben proteínas y otras cargas desde múltiples sitios

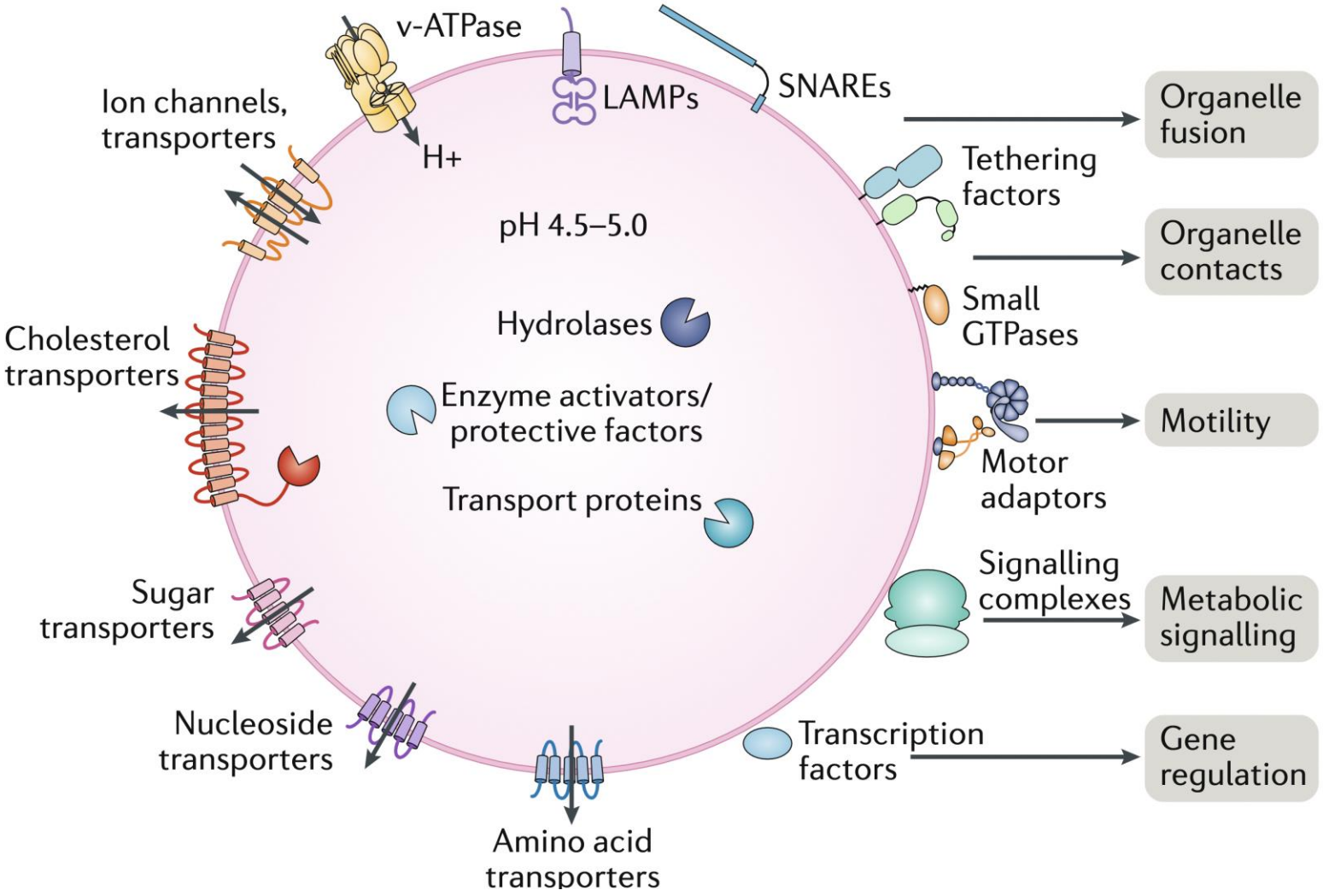


Una variedad de proteínas en el lisosoma sostiene distintas funciones

Más de 50 hidrolasas
- Proteasas
- Lipasas
- Nucleasas
- Fosfatasas
- Sulfatasas

Sobre 120 proteínas de membrana
- Transportadores
- V-ATPasa
- Factores de acoplamiento
- LAMPs
- SNAREs

Proteínas asociadas
- Señalización: mTOR
- Factores de transcripción
- GTPasas Rabs

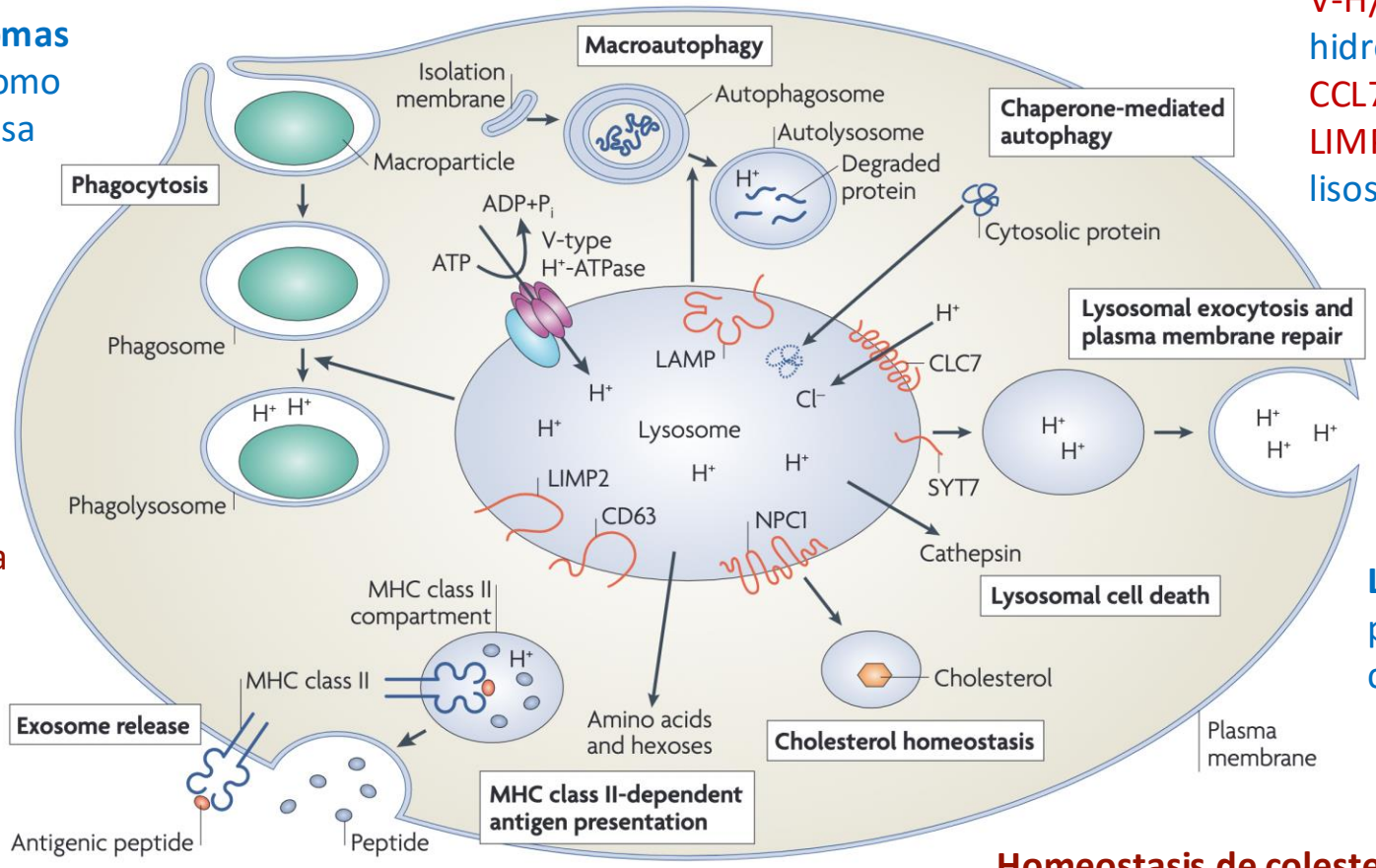


Funciones de las proteínas de membrana lisosomal

Macroautofagia
Recambio de componentes citoplasmáticos
(organelos y complejos protéicos)
Importante en proliferación y muerte celular

LAMP1 controla macroautofagia y autofagia mediada por chaperona
V-H/ATPasa: Transporta iones hidrógenos hacia el interior
CCL7: Canal de cloro
LIMP2: Transporta enzimas al lisosoma

Maduración de fagosomas hacia autolisosomas como mecanismo de defensa contra patógenos



Exocitosis lisosomal y reparación de la membrana plasmática dependen de Calcio y SNARE (Sinaptotagmina)

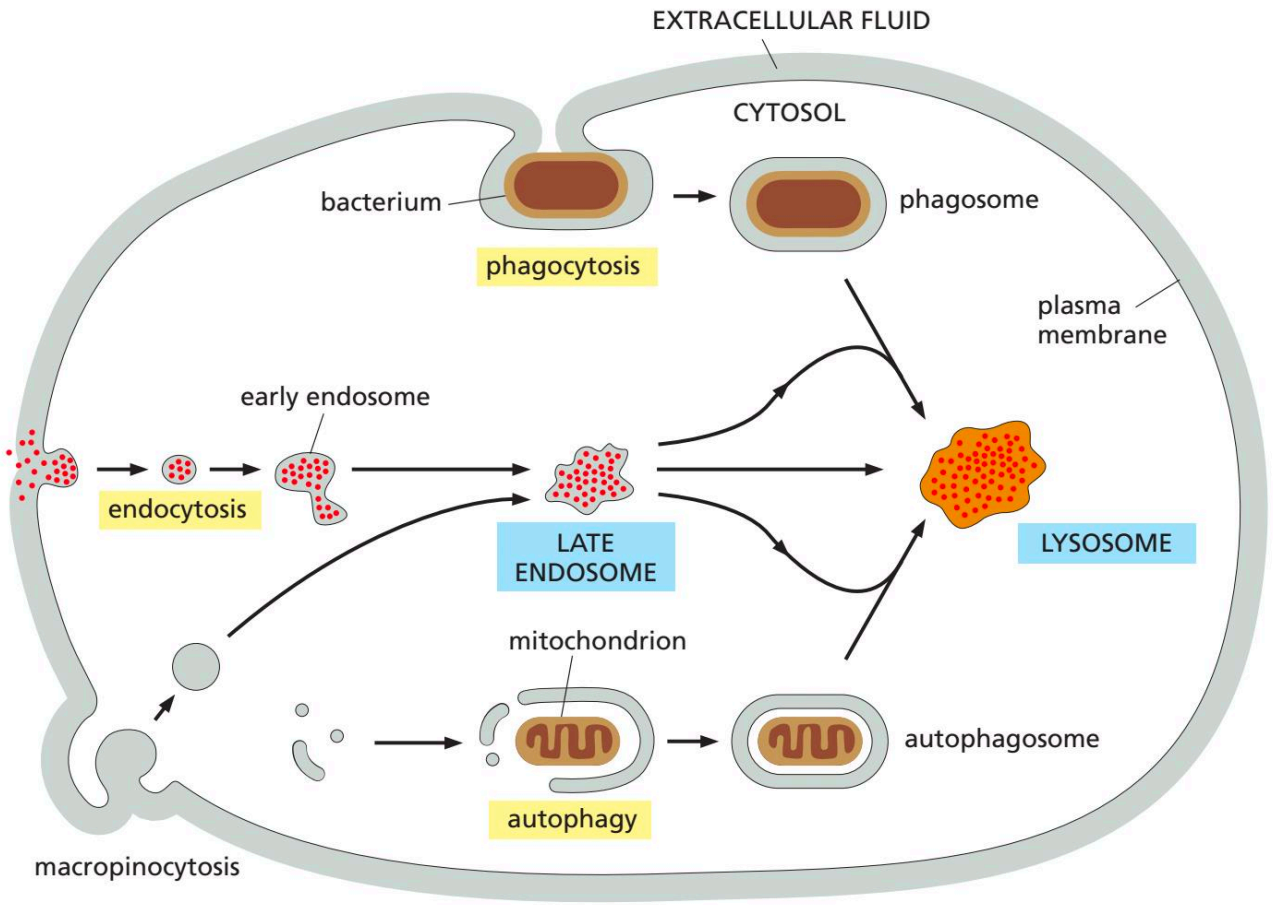
La **liberación de exosomas** participa en las respuestas imunológicas adaptativas

Liberación de catepsinas puede desencadenar muerte celular

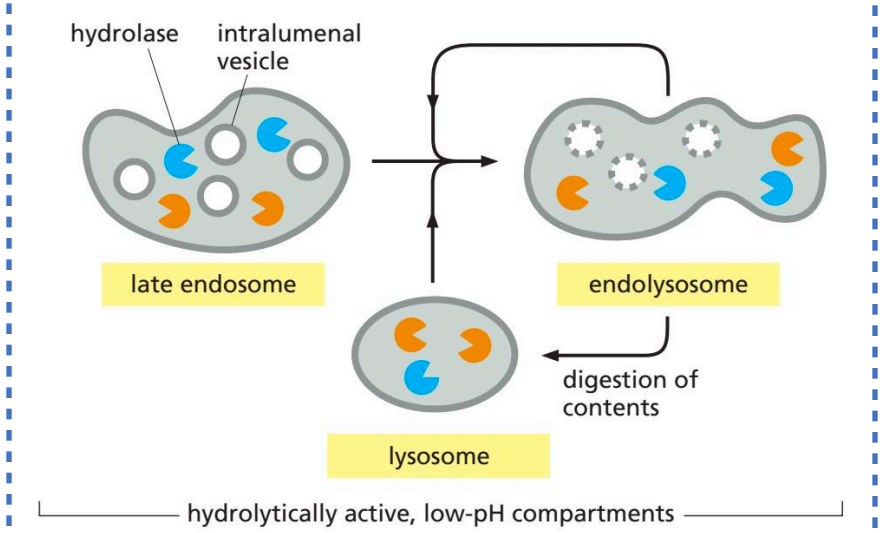
La **presentación de antígeno** por MHC (Complejos de histocompatibilidad) clase II requiere proteasas y proteínas de membrana lisosomales

Homeostasis de colesterol depende del eflujo de colesterol a través de la proteína Niemann-Pick C1 (NPC1)

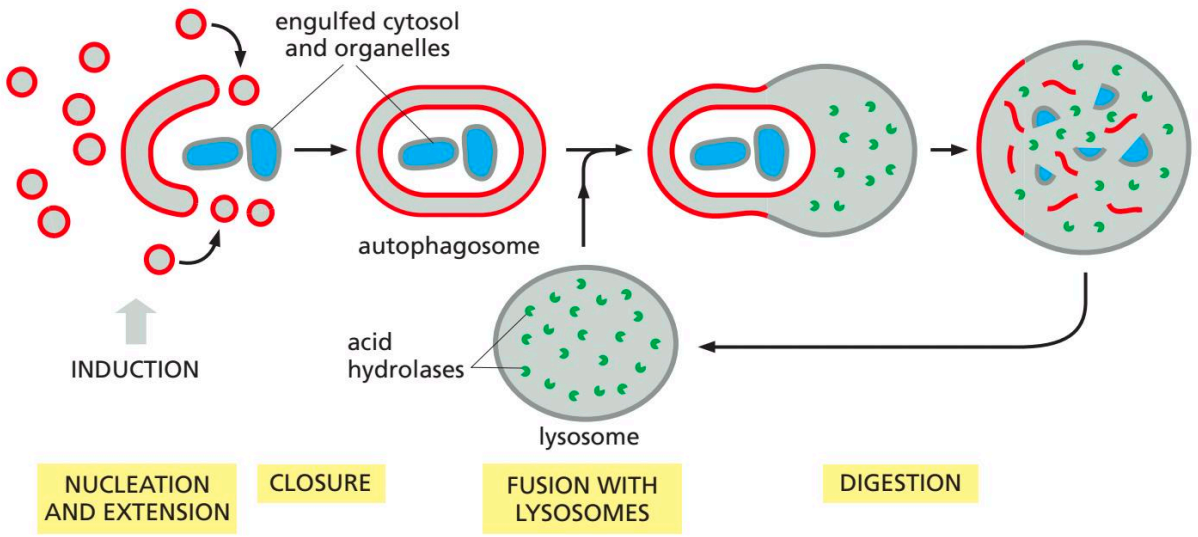
Vías de degradación lisosomal



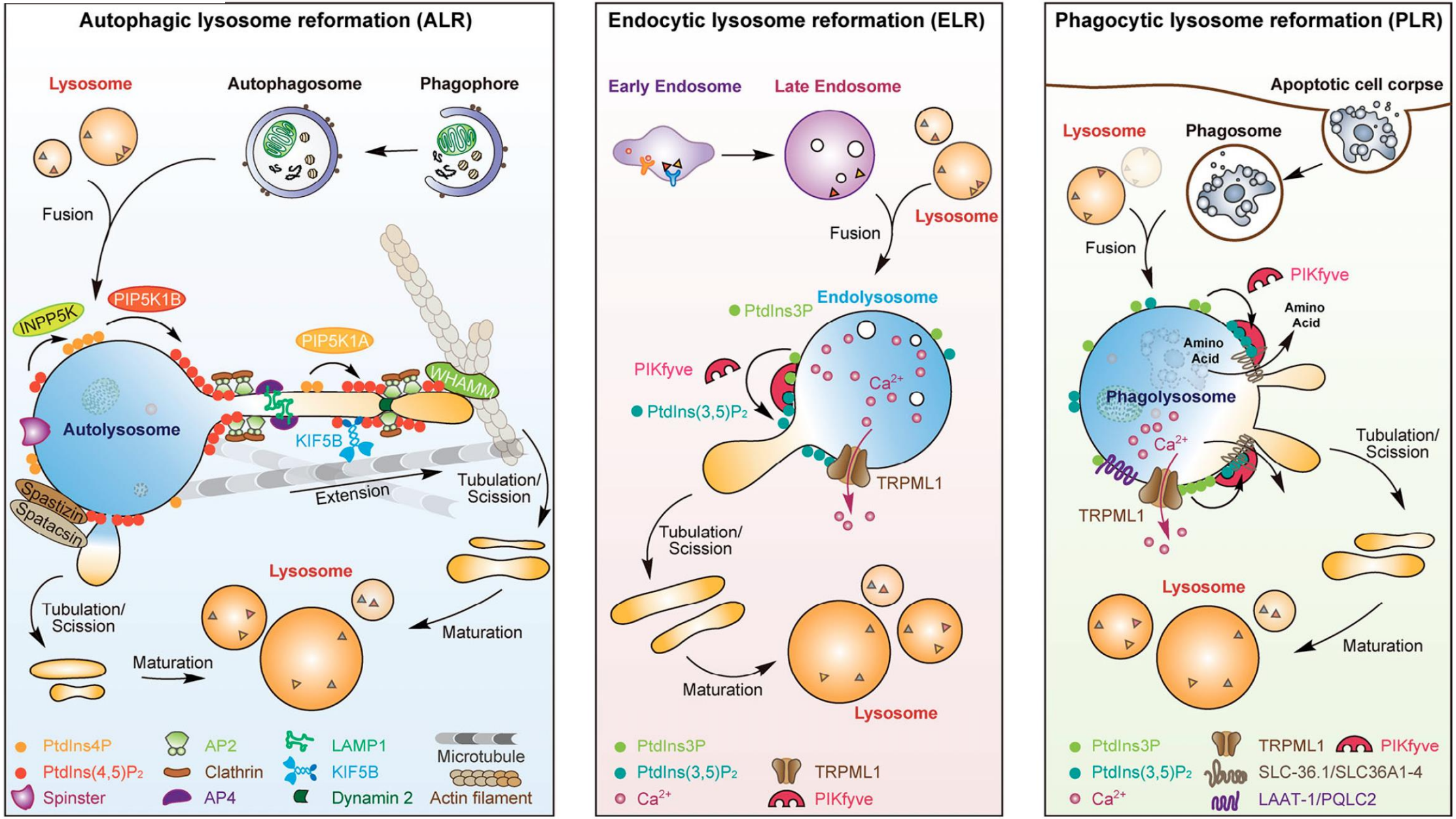
Vía endosomal de degradación



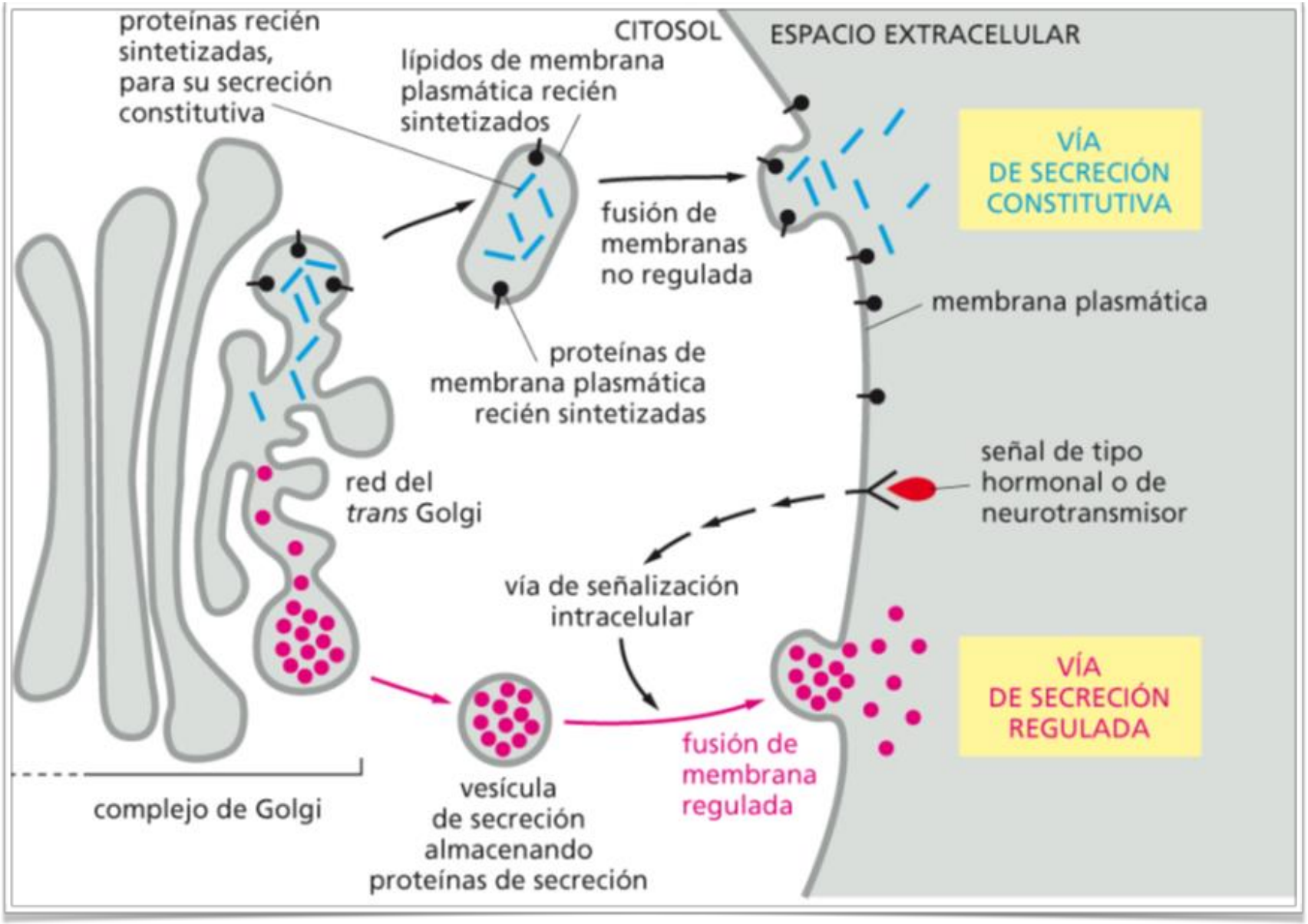
Vía autofágica de degradación



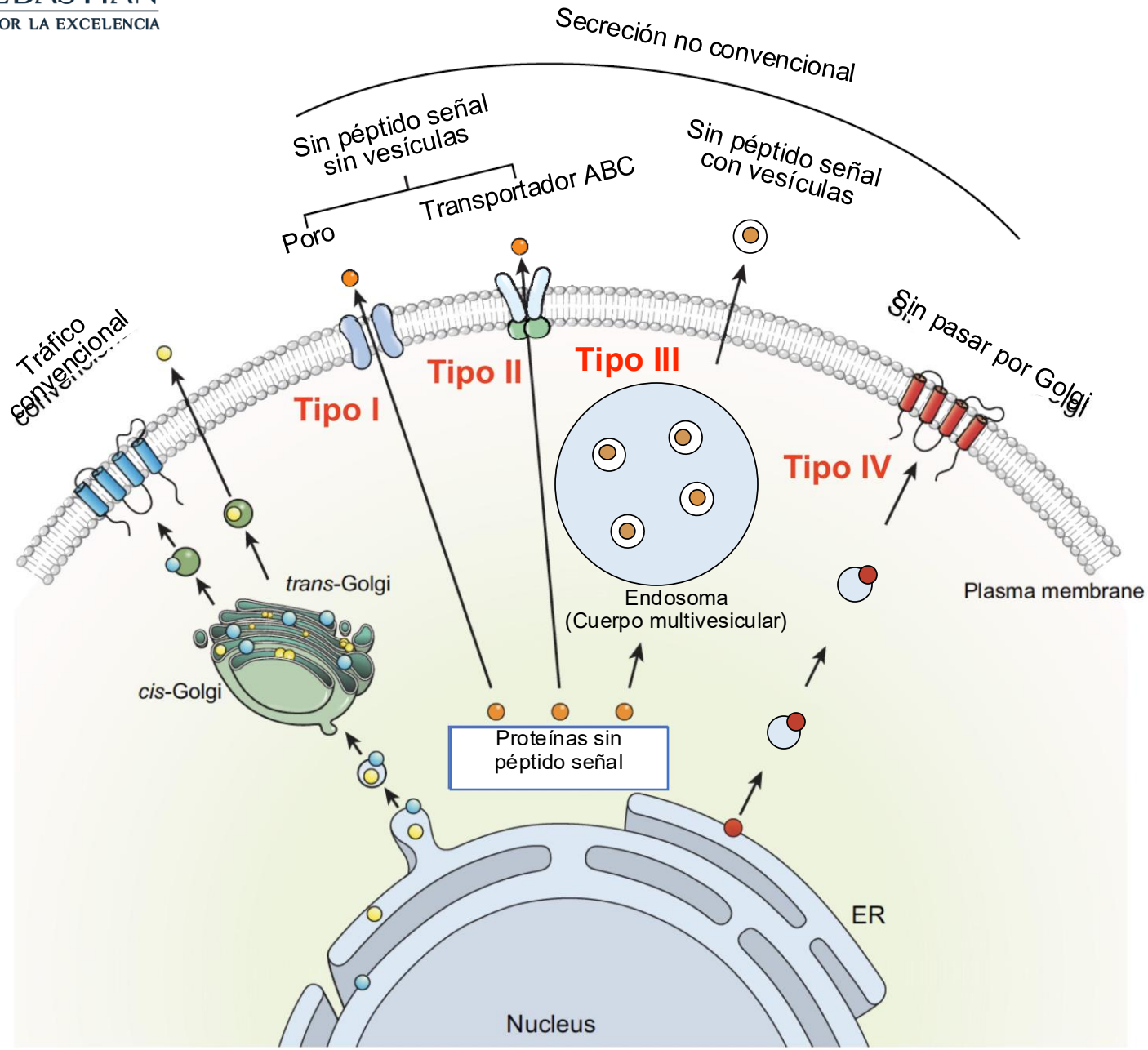
Diferentes formas de regenerar lisosomas



Vías de secreción de proteínas



Secreción no convencional de proteínas que no poseen péptido señal



Sin vesículas:

Tipo I: Poros que se arman en la membrana plasmática

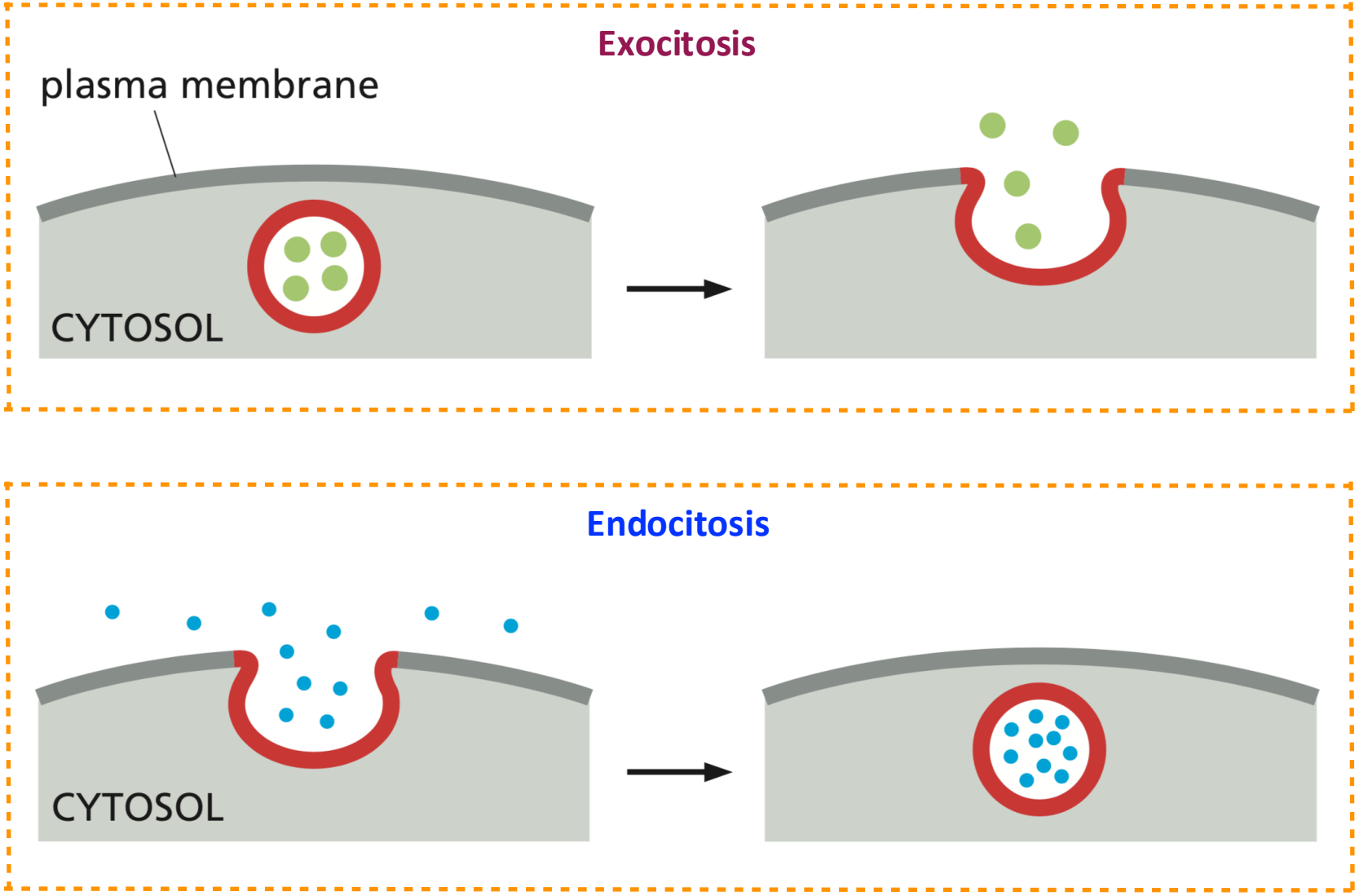
Tipo II: Transportadores ABC

Con vesículas:

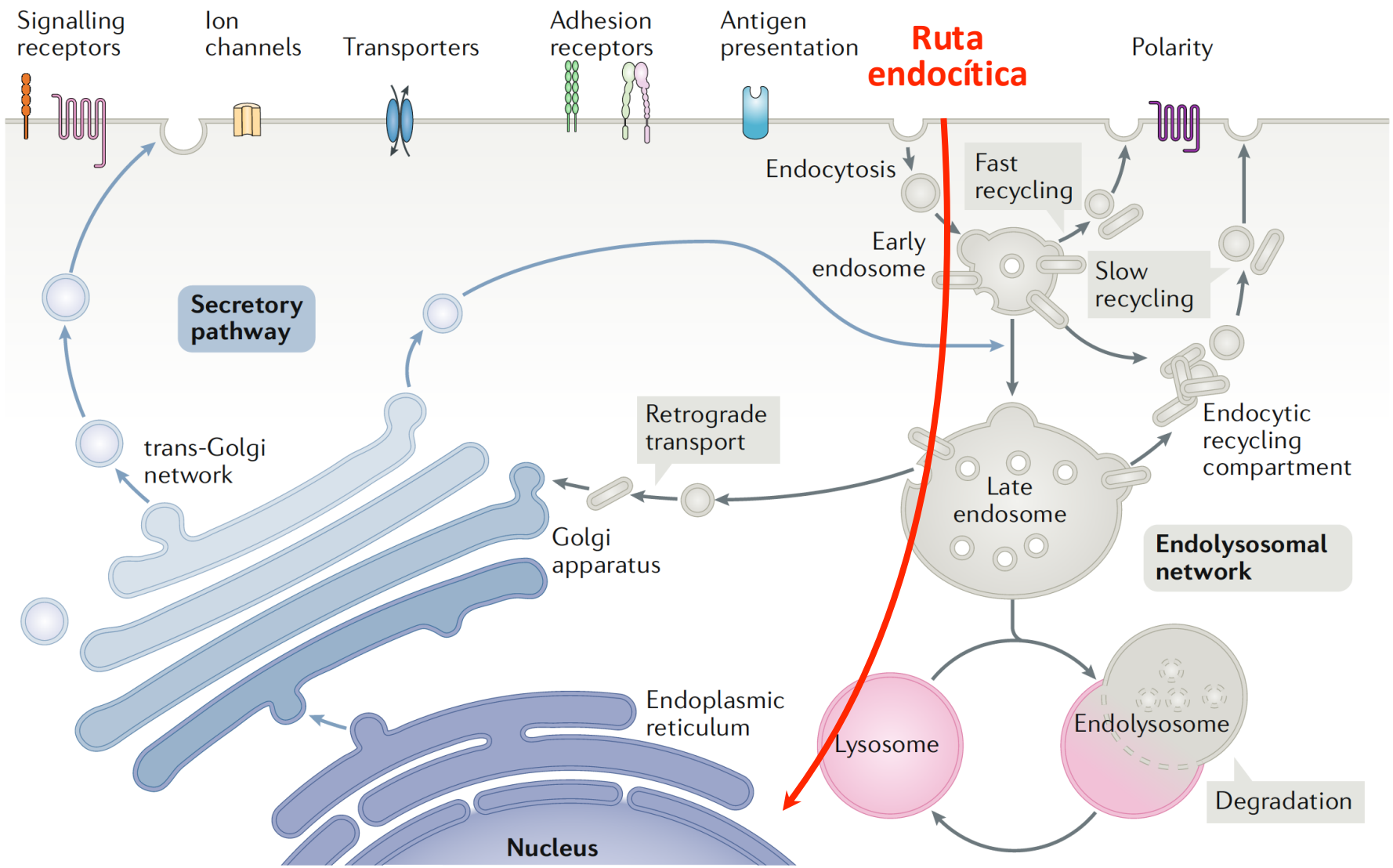
Tipo III: Desde endosomas

Tipo IV: Desde retículo endoplasmático o ERGIC sin pasar por Golgi

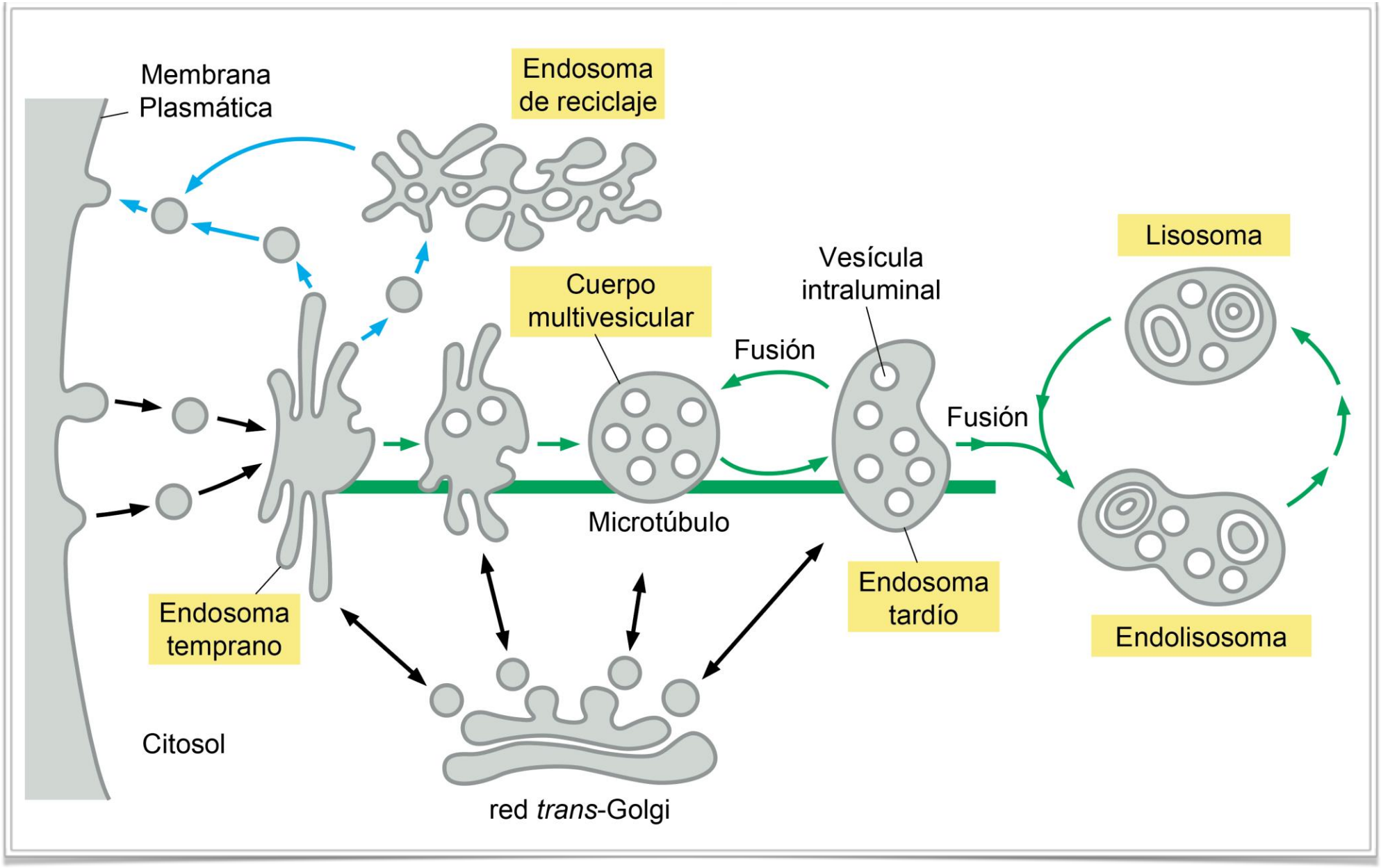
Endocitosis: opuesto a exocitosis



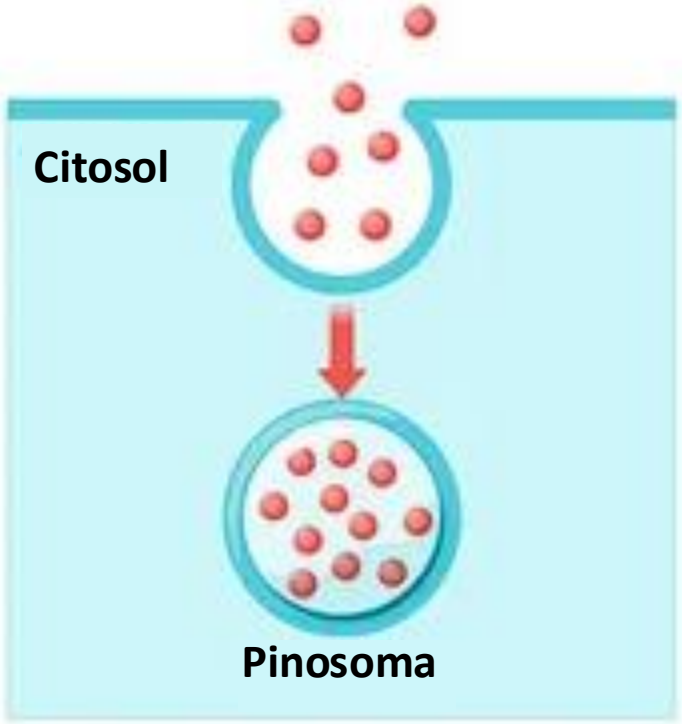
Endocitosis



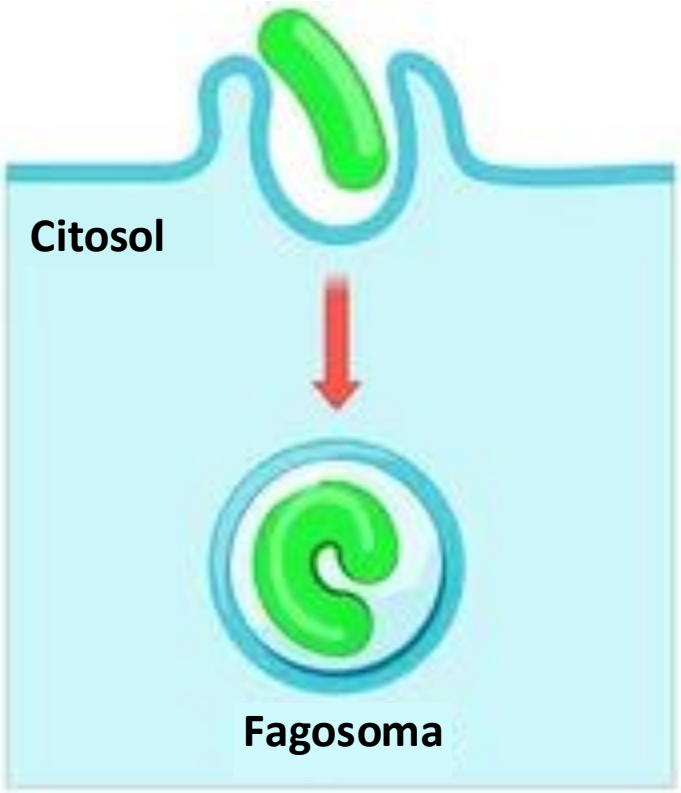
Compartimentos de la ruta endocítica



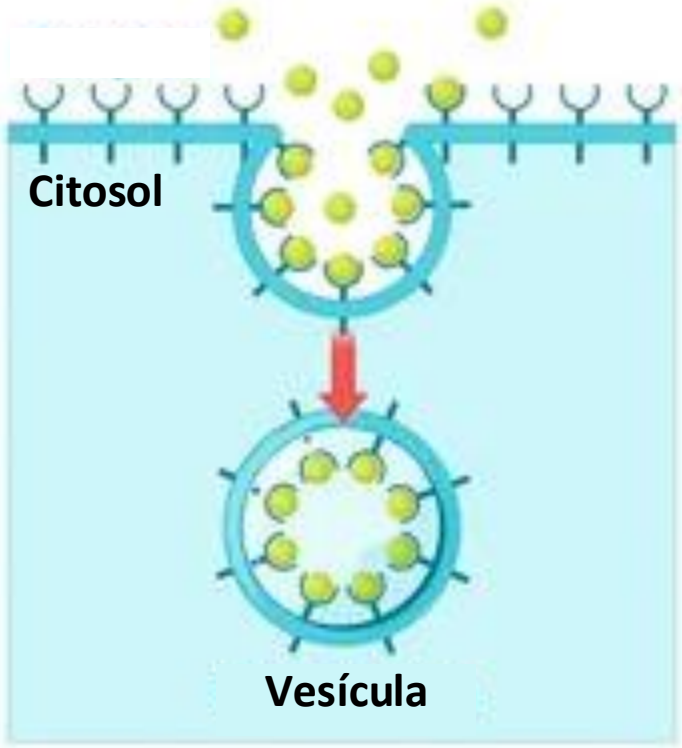
Tipos de endocitosis



Pinocitosis
("célula bebiendo")

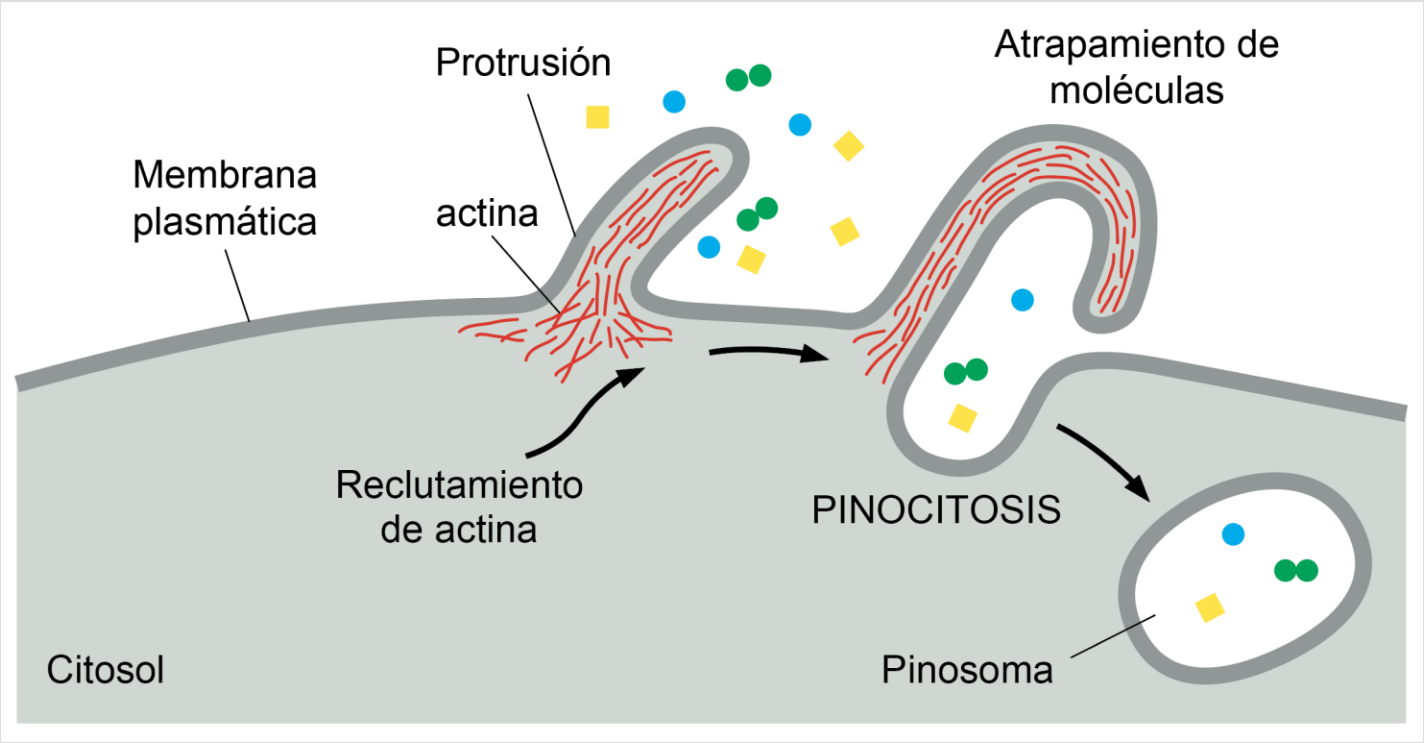


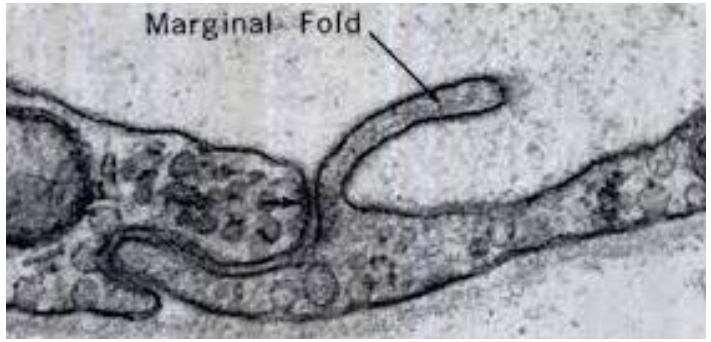
Fagocitosis
("célula comiendo")

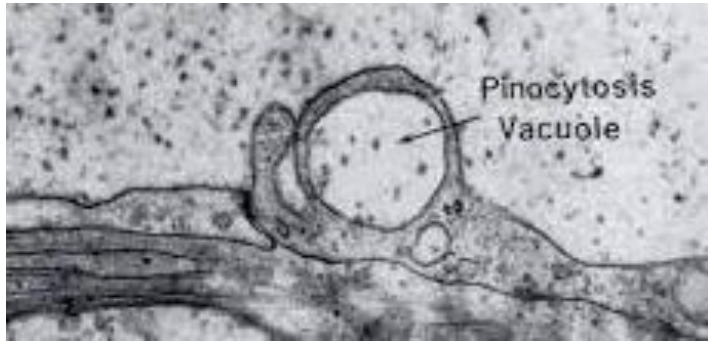


Endocitosis
mediada por receptor

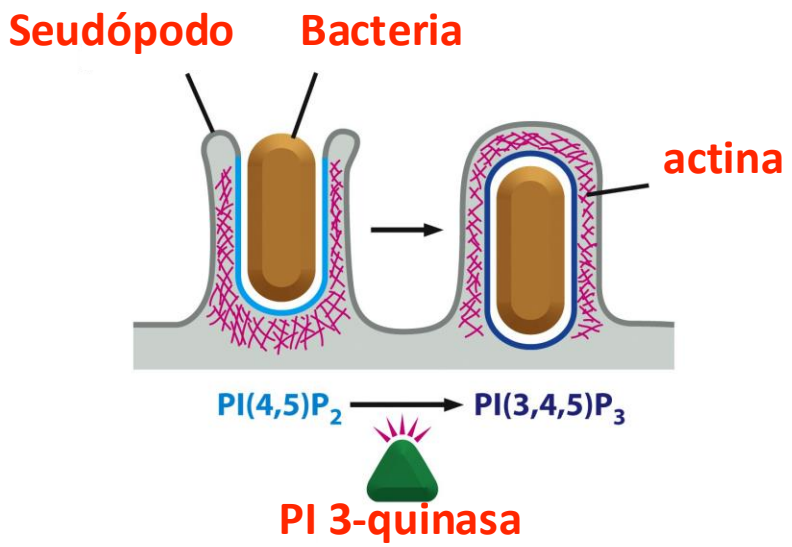
Pinocitosis

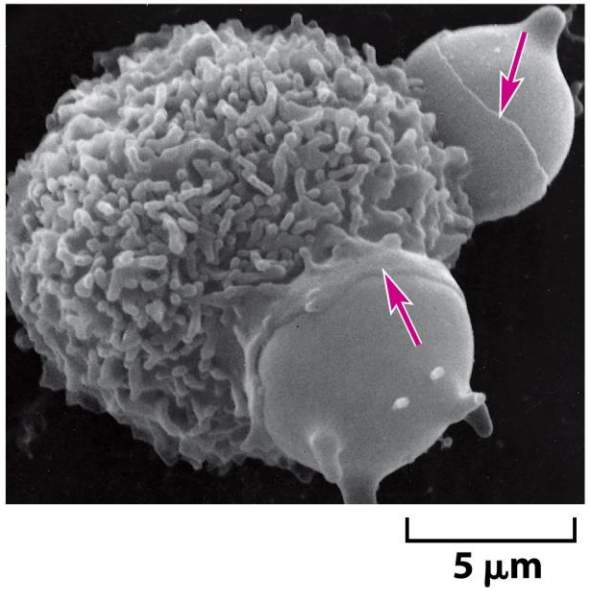




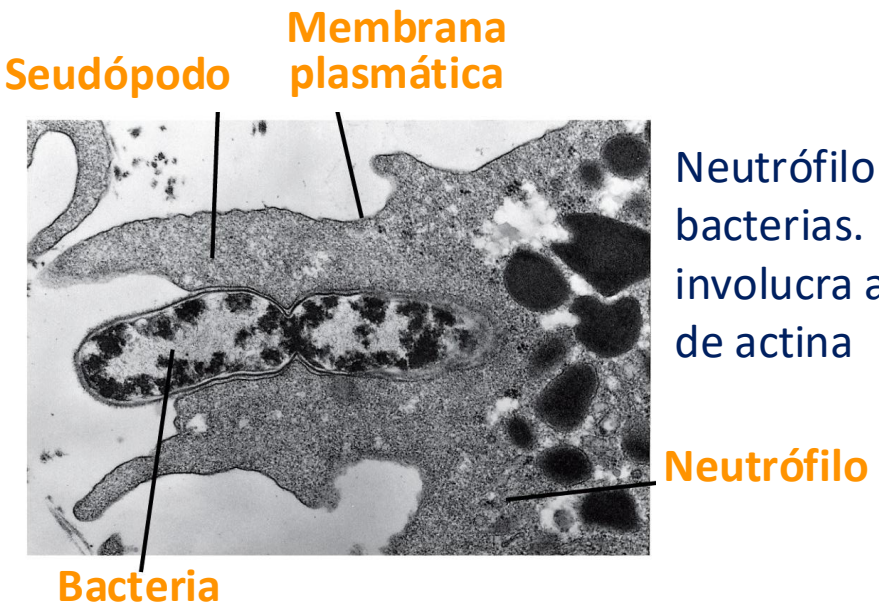


Fagocitosis

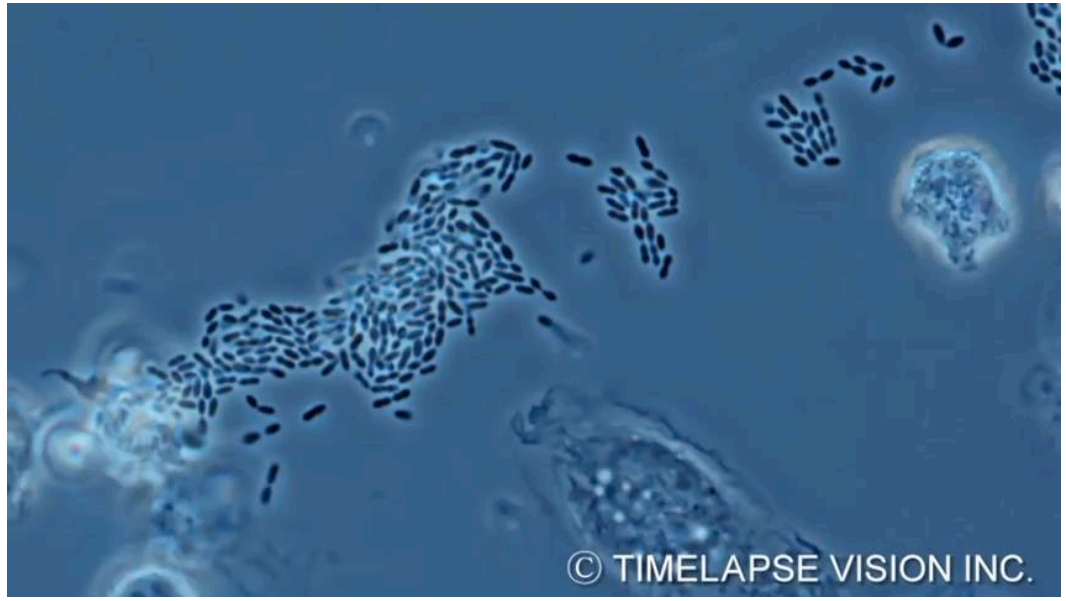




Macrófago fagocitando glóbulos rojos alterados, mostrando pseudopodios (extensiones de la membrana plasmática; flechas rojas) que engloban lo que se fagocita



Neutrófilo fagocitando bacterias. El proceso involucra al citoesqueleto de actina



Endocitosis mediada por receptor

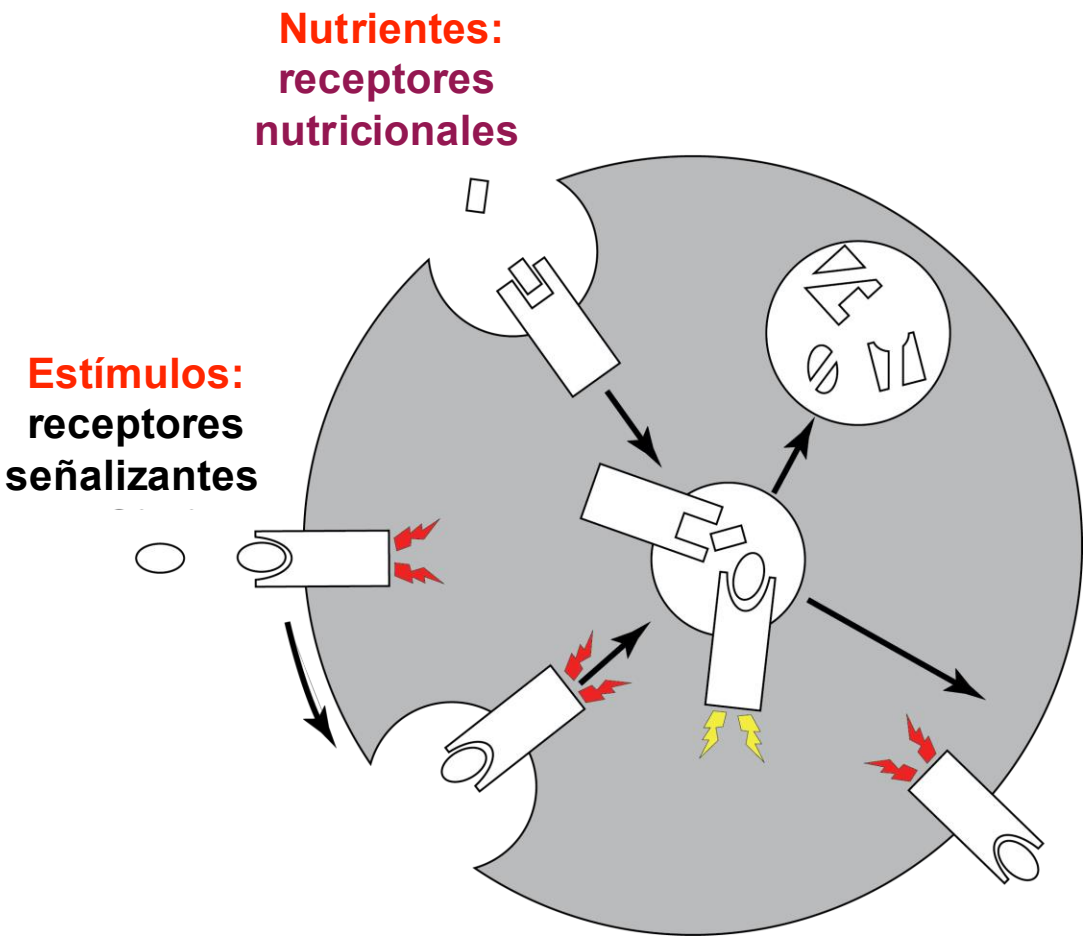
Funciones fisiológicas

Nutrición y metabolismo

Transducción de señales

Migración celular

Reservorio intracelular de receptores



Anomalías patogénicas

Malformaciones

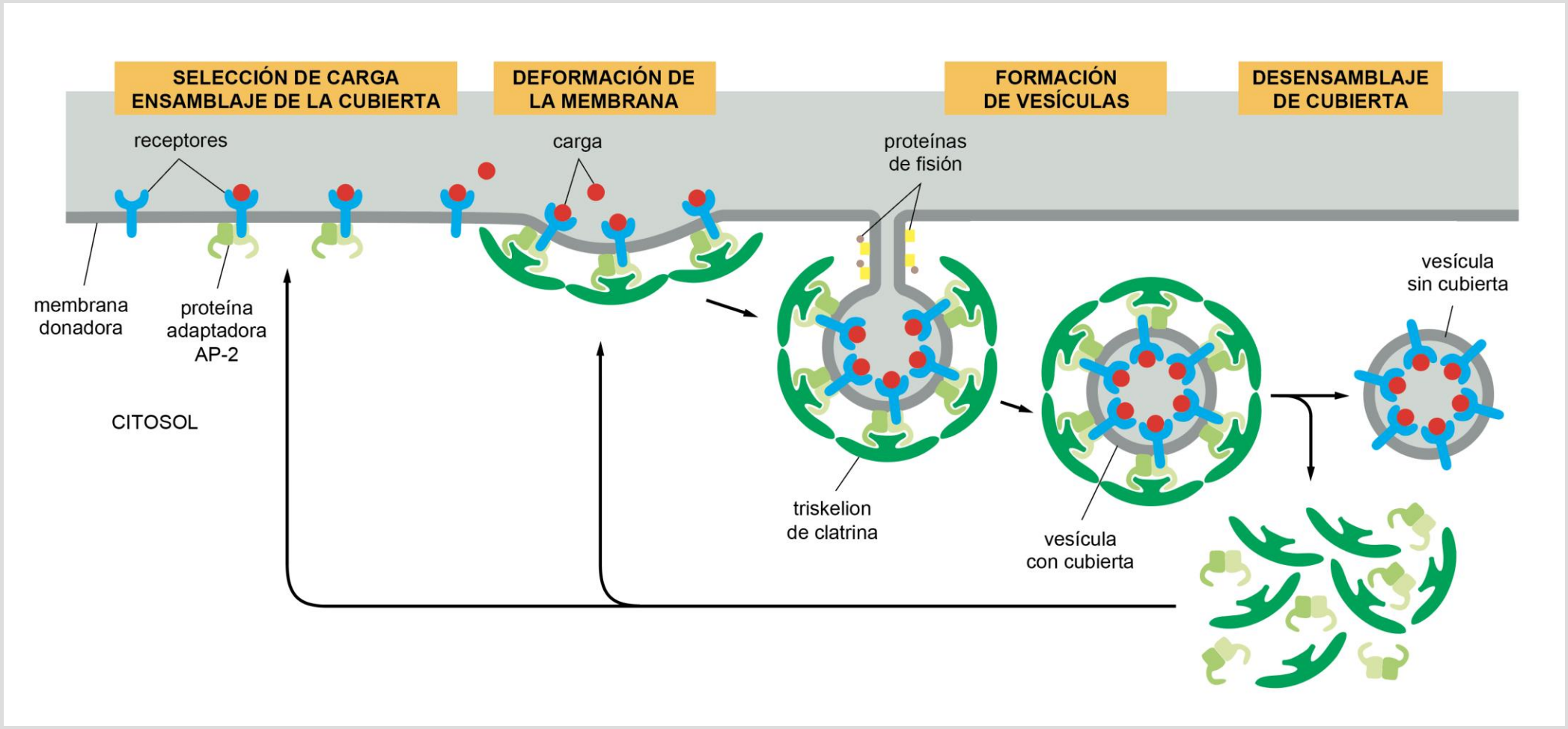
Diabetes

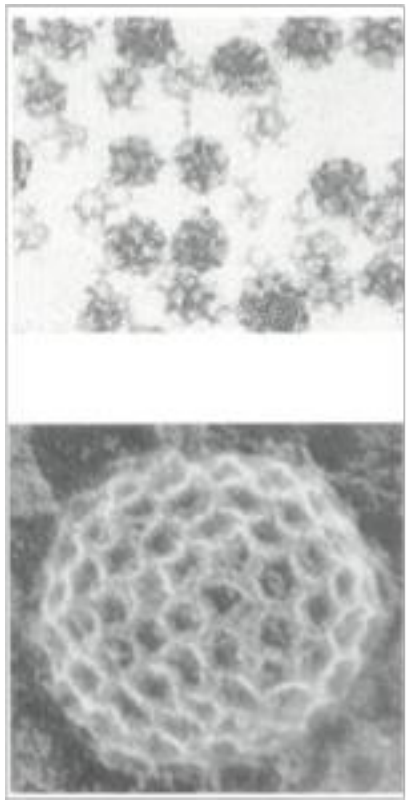
Cáncer

Neurodegeneración

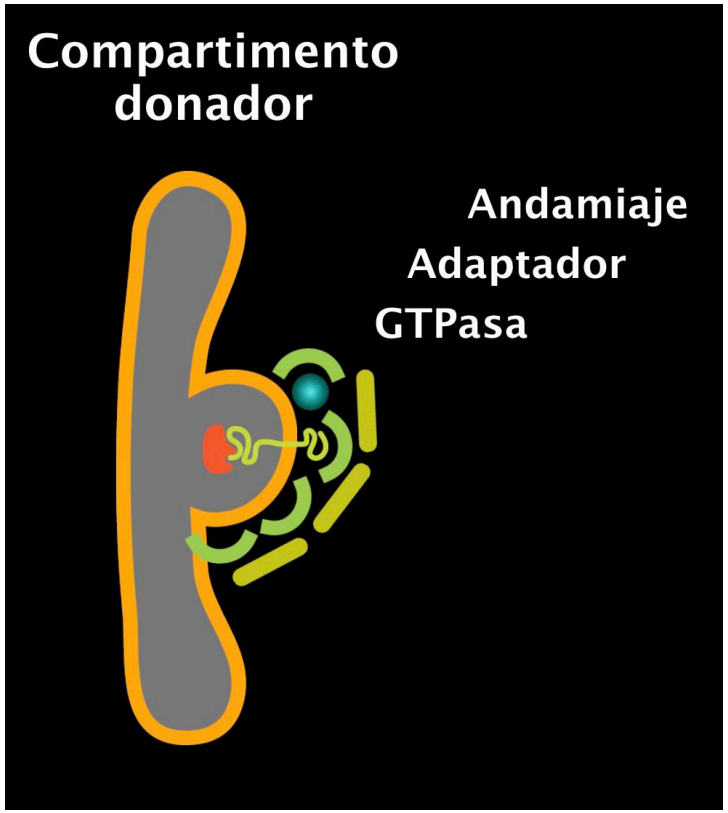
Endocitosis mediada por receptor

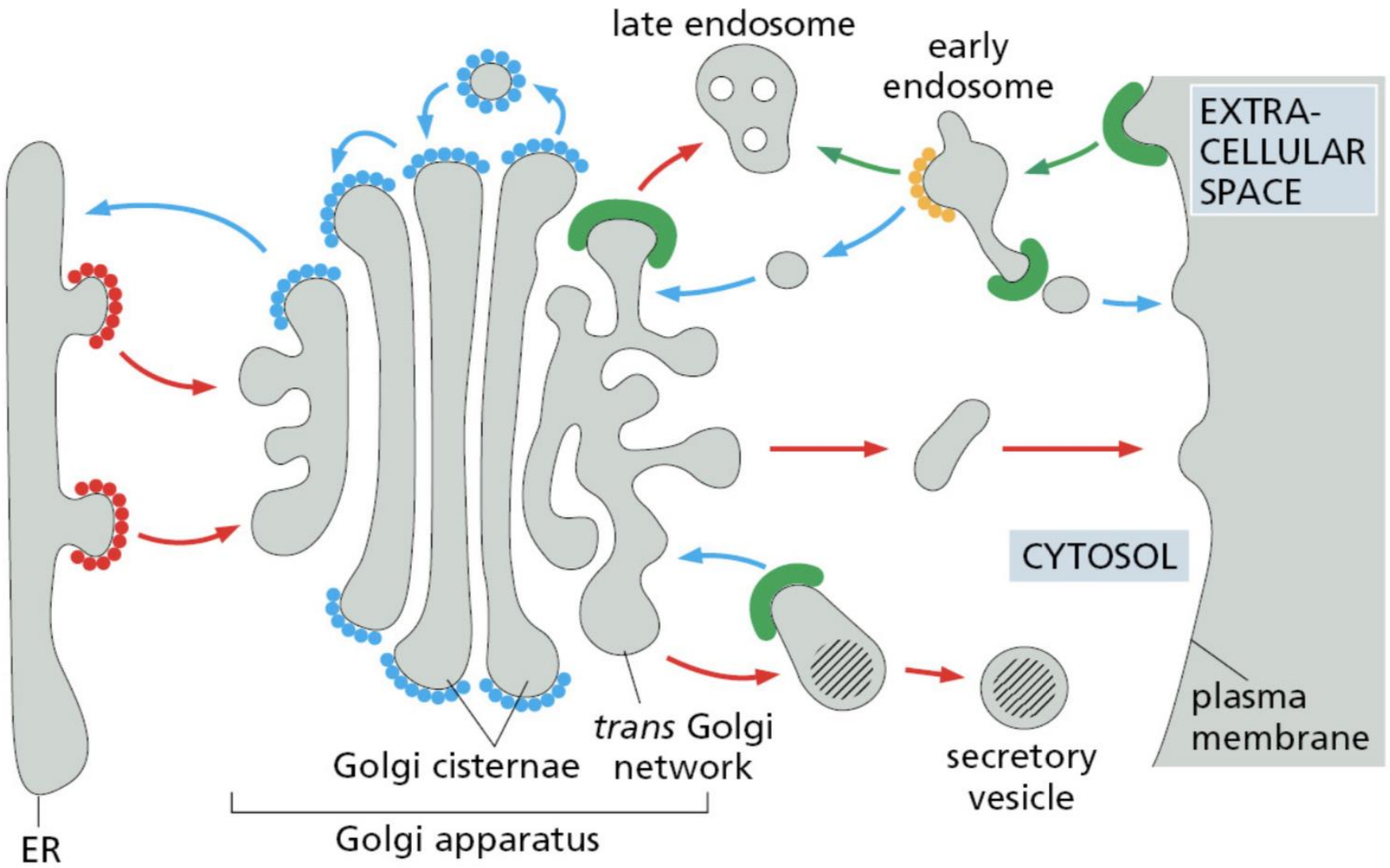
Acoplamiento mediante el adaptador AP-2 de la selección de la carga y la formación de vesículas cubiertas con clatrina





Proteínas de cubierta de vesículas en el RE, Golgi y membrana plasmática

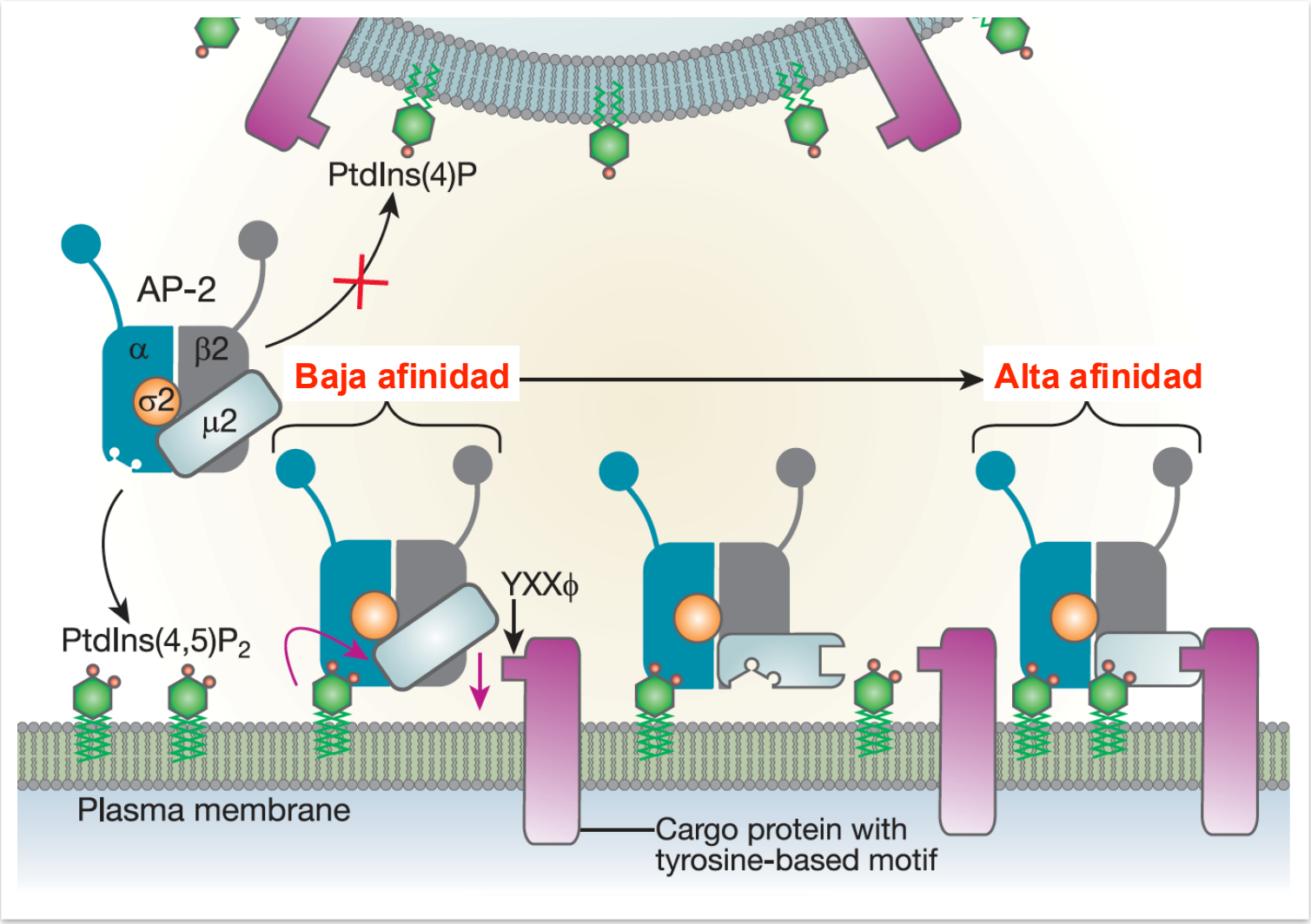




GTPasa:	Sar1	Arf1	Arf1	?
Adaptador:	COP-II { Sec23/Sec24	COP-I { α-COP/β'-COP/ε-COP	AP-1 o AP-3 o AP-4	AP-2
Andamiaje:	Sec13/Sec31	β-COP/δ-COP/γ-COP/ζ-COP	Clatrina	Clatrina

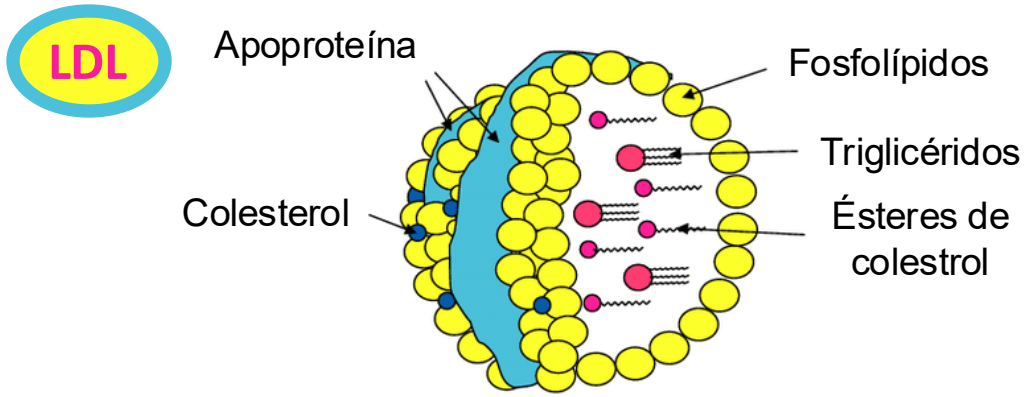
Endocitosis mediada por receptor

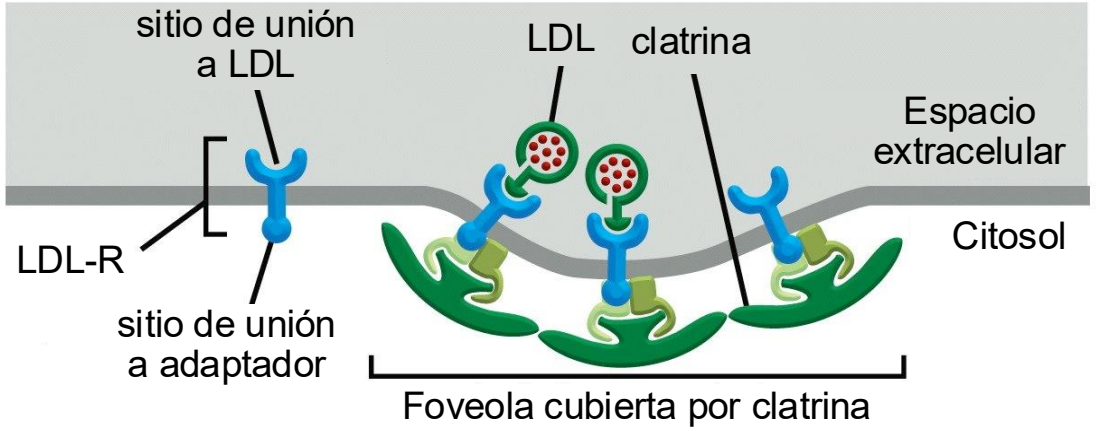
¿Porqué el adaptador AP-2 no interactúa con señales endocíticas de las proteínas que van transitando por el aparato de Golgi?

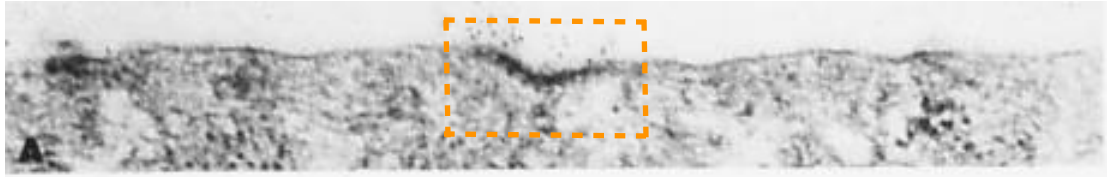


Esto explica porqué AP-2 no interactúa con proteínas que tienen señales endocíticas cuando éstas van transitando por el TGN

Endocitosis del receptor de lipoproteína de baja densidad (LDL-R)

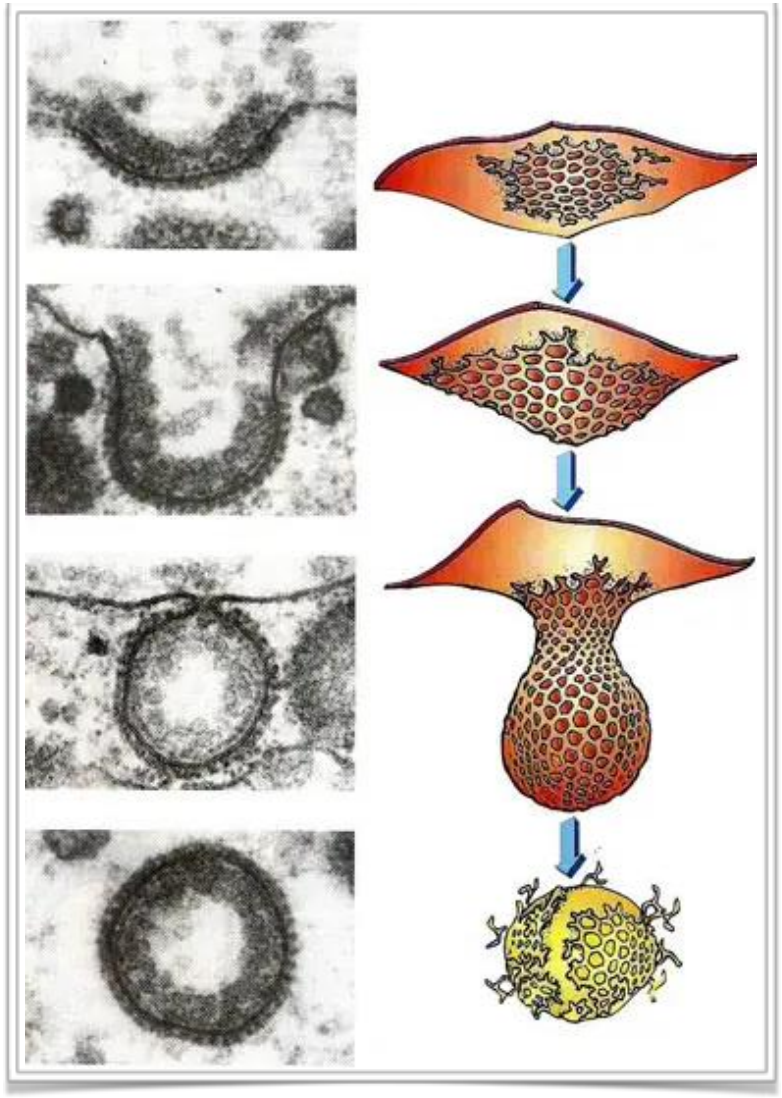






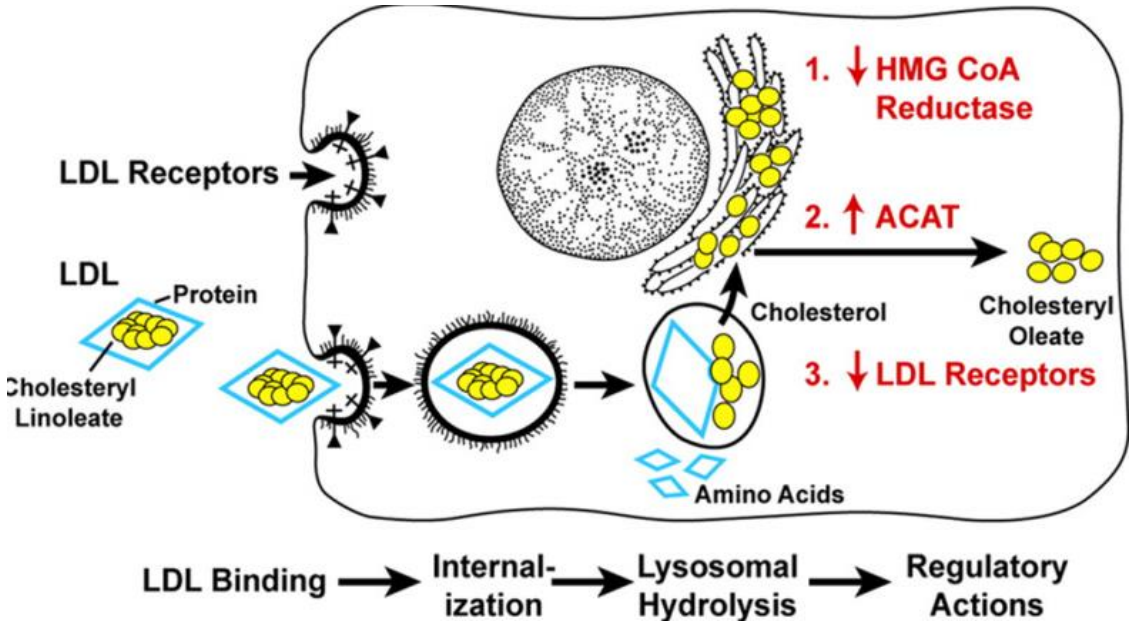
90% de LDL-R se encuentra en regiones cubiertas por clatrina

Endocitosis nutricional

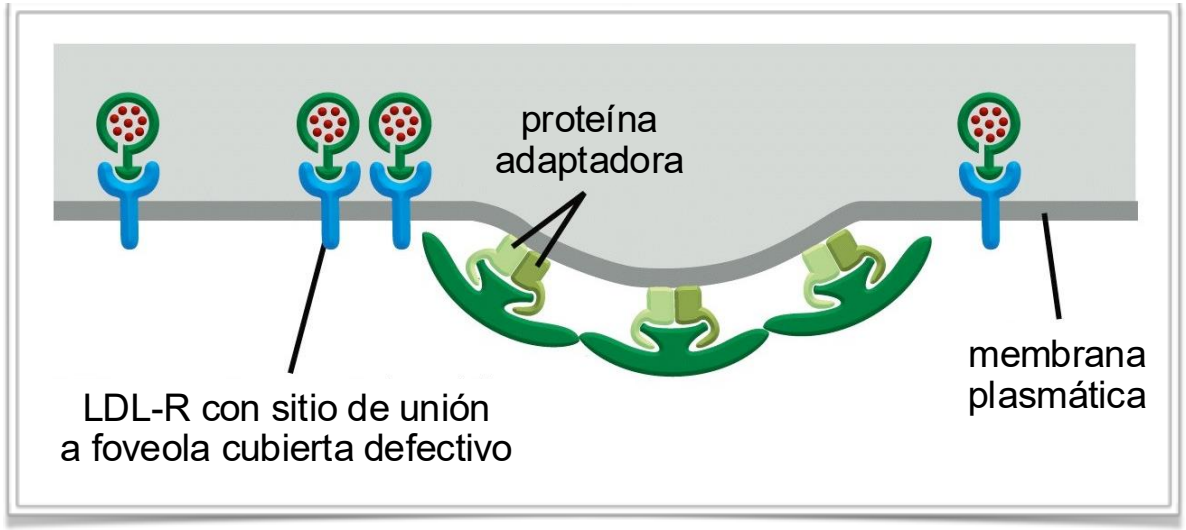


Endocitosis del receptor de lipoproteína de baja densidad (LDL-R)

Endocitosis nutricional



El LDL-R tiene una **señal de endocitosis** en el dominio citosólico Asn-Pro-X-Tyr (NPXY)



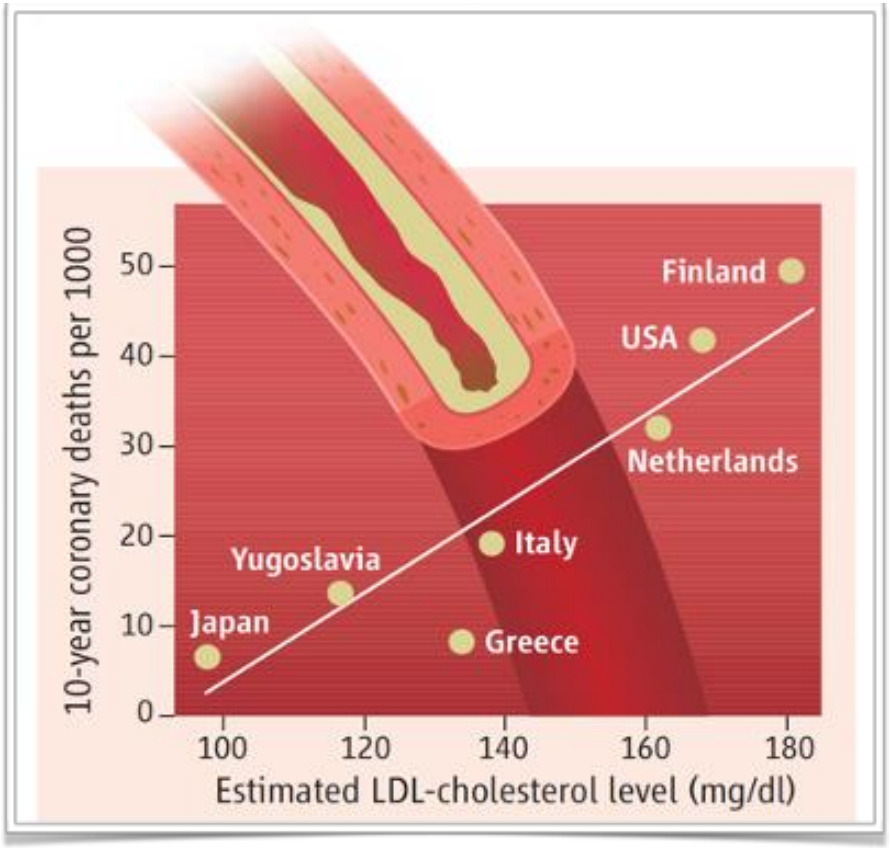
Existen mutantes de LDL-R que tienen mutada la señal de endocitosis y no se endocitan

LDL-R anormal en hipercolesterolemia familiar

Pacientes con hipercolesterolemia familiar tienen elevados niveles de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en la sangre

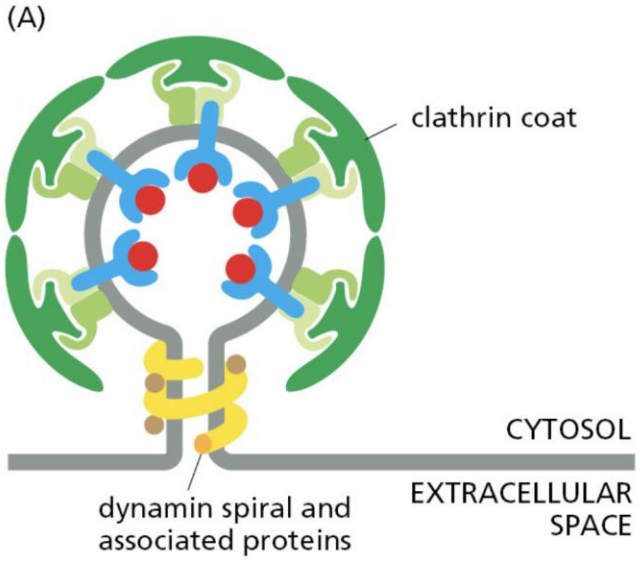
Hipercolesterolemia Familial	Prevalencia	Colesterol-LDL (mg/dl)
Normal		120
Heterocigoto	1 por 500	300
Homocigoto	1 por millón	650

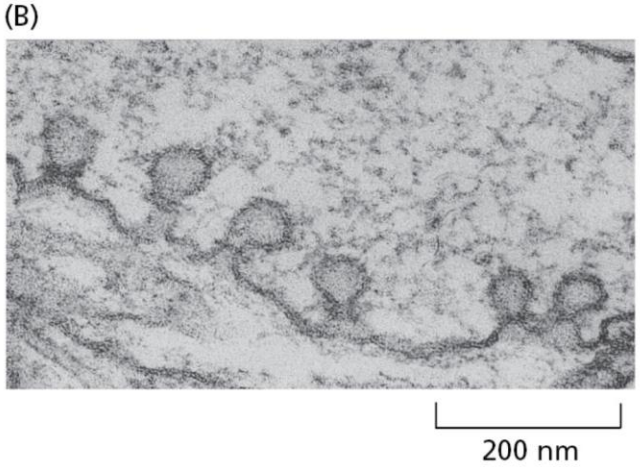
Niveles altos de lipoproteínas de baja densidad (LDL) aumentan el riesgo de infarto

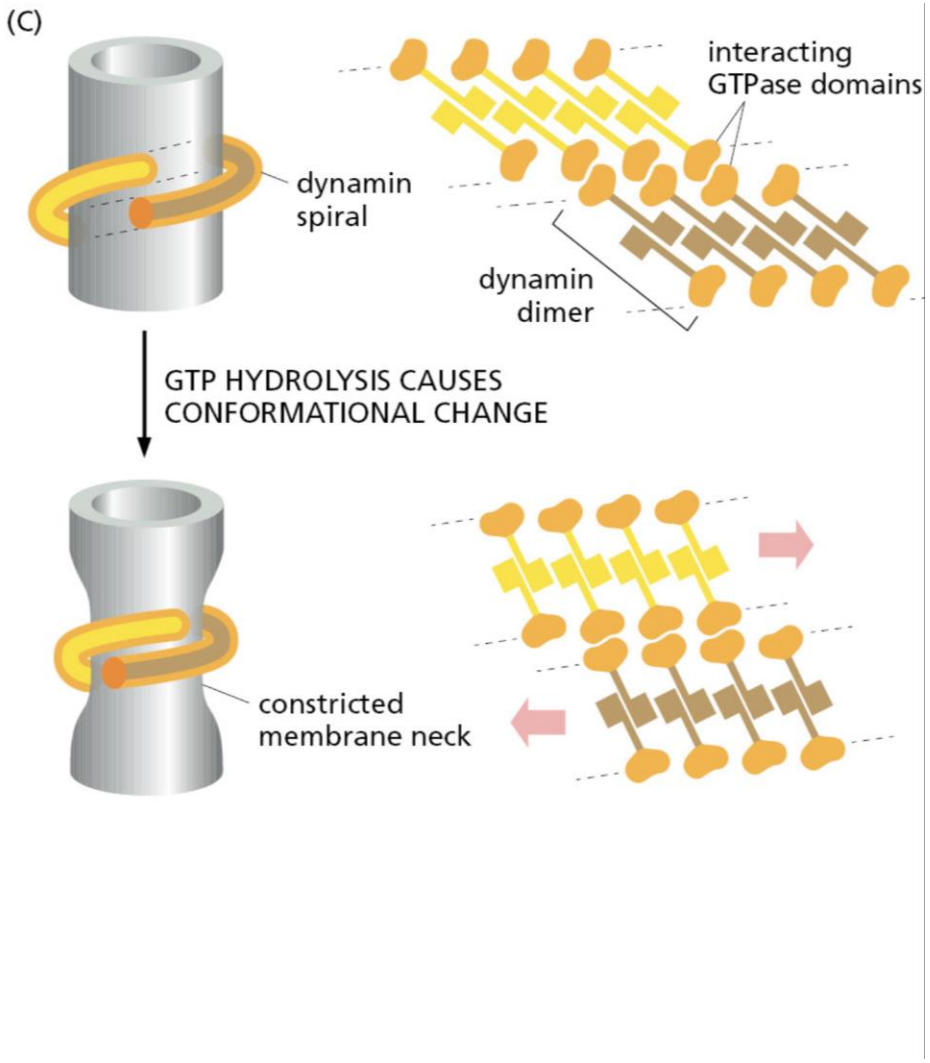


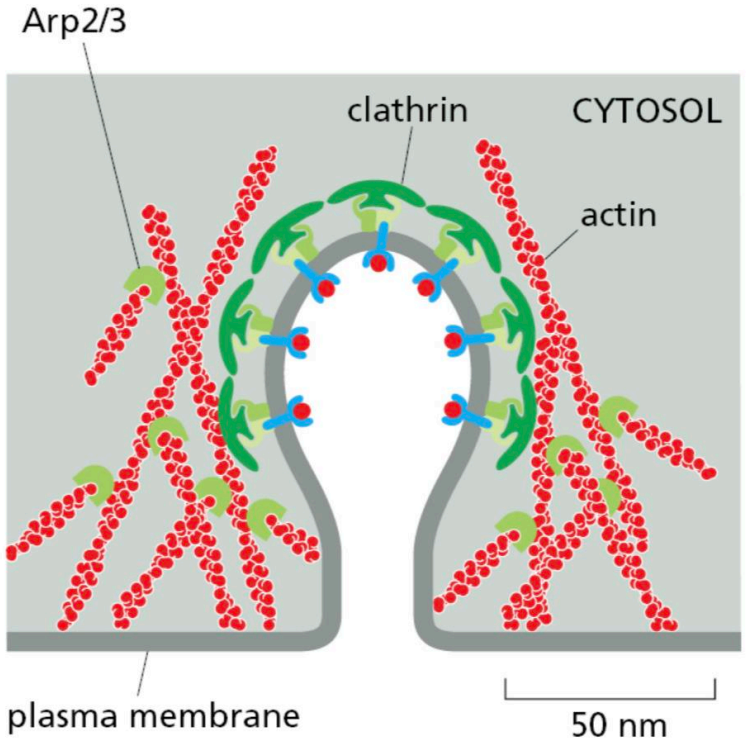
Placas de aterosclerosis en arterias coronarias

Rol de la dinamina y el citoesqueleto de actina en la endocitosis

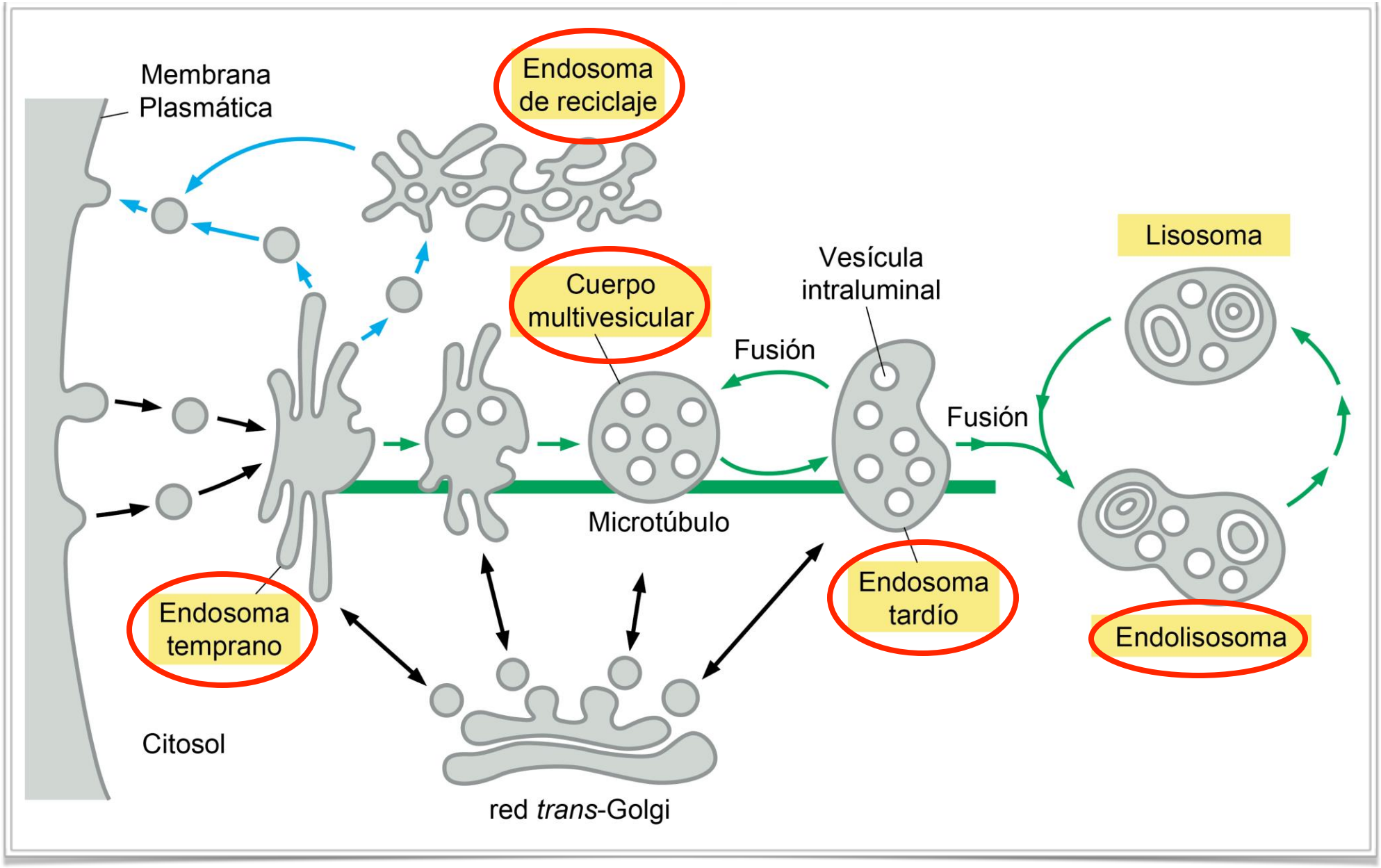




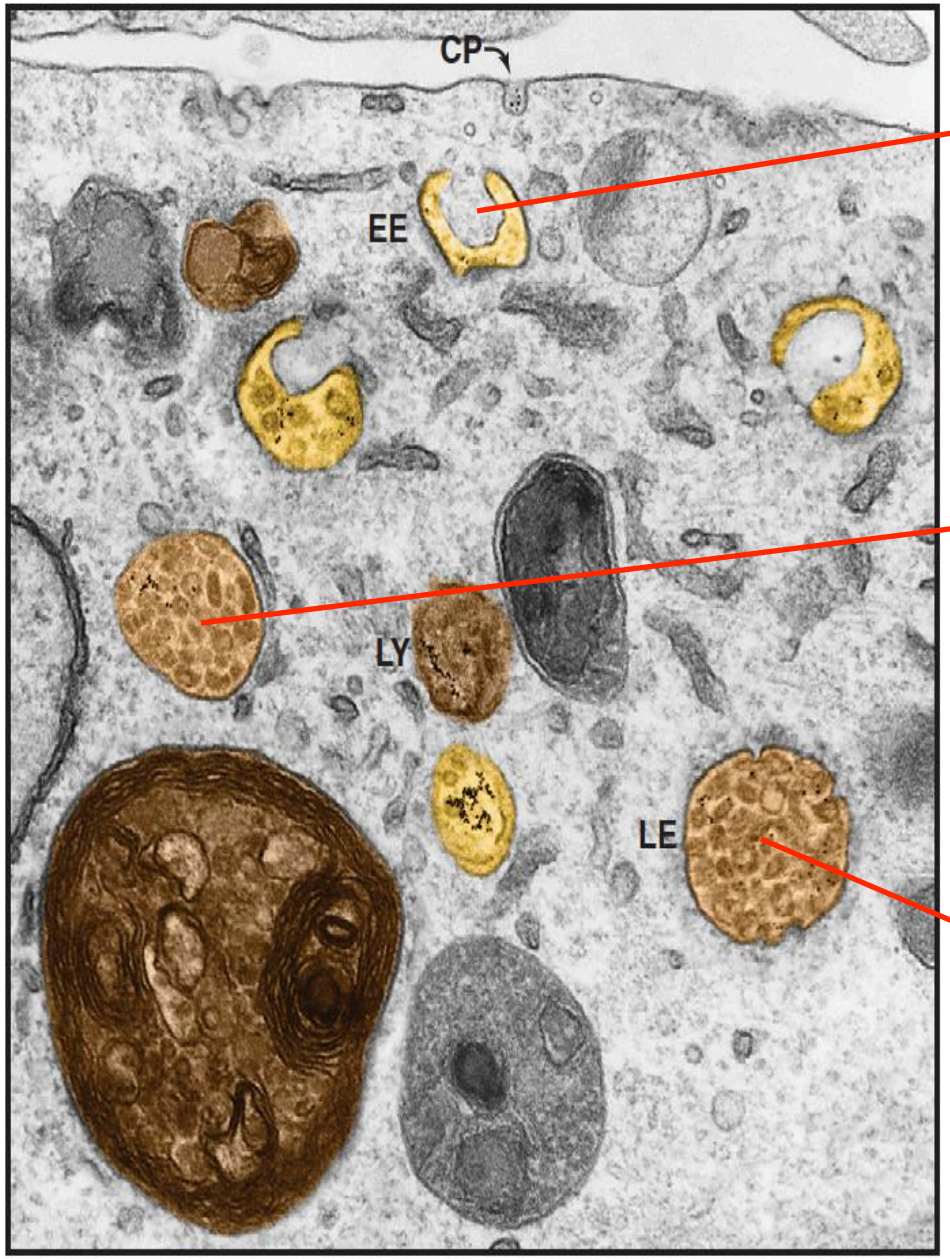




Endosomas


Membrana
Plasmática
Endosoma
de reciclaje
Cuerpo
multivesicular
Vesícula
intraluminal
Lisosoma
Fusión
Fusión
Microtúbulo
Endosoma
temprano
Endosoma
tardío
Endolisosoma
Citosol
red *trans*-Golgi

Tipos de endosomas

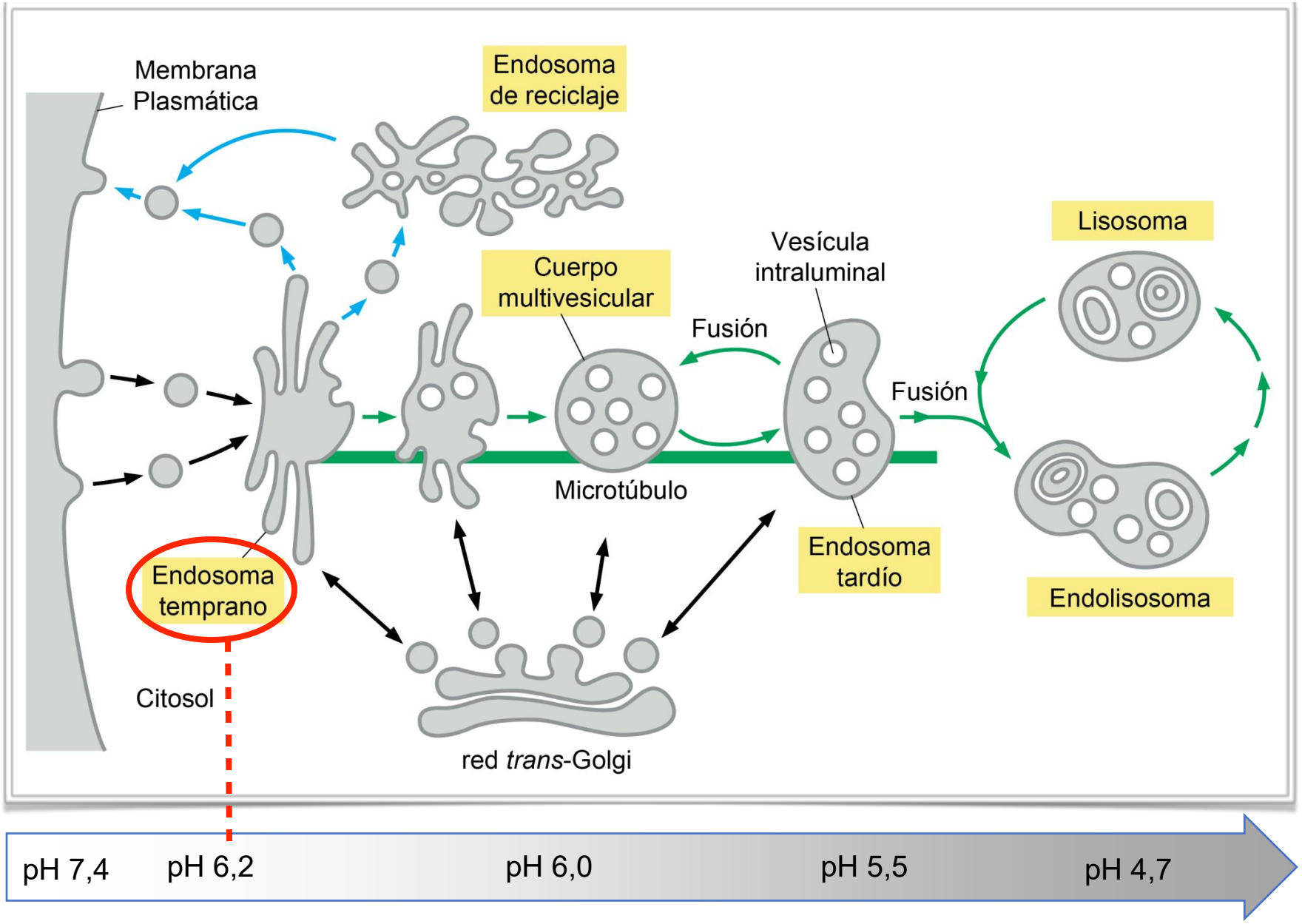


Endosoma temprano

Cuerpo multivesicular

Endosoma tardío

Tipos de endosomas: endosomas tempranos y tardíos



Los **endosomas tempranos** se localizan cerca de la membrana plasmática.

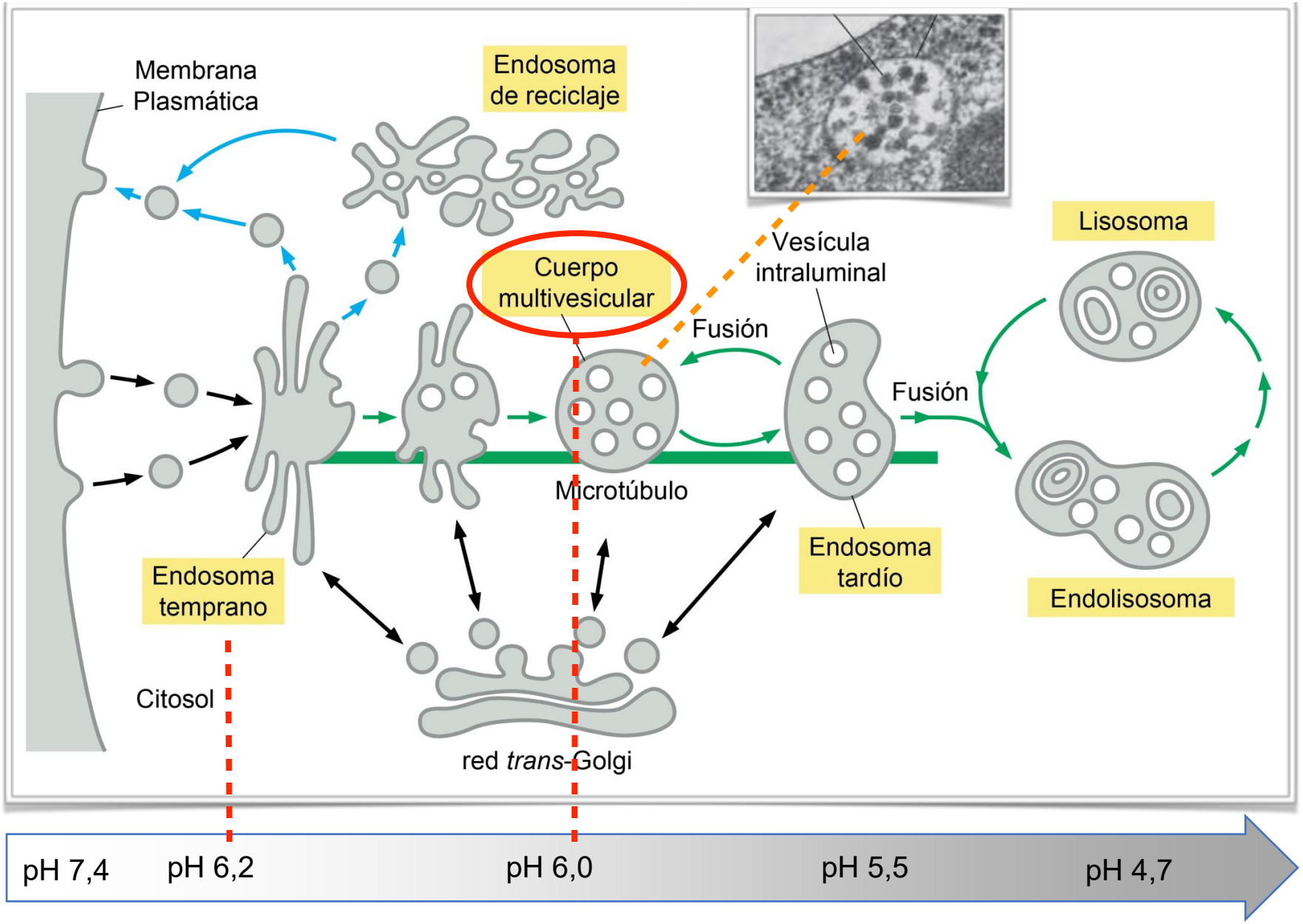
Sirven como estación de recepción de elementos endocitados.

Reciclan a la membrana plasmática proteínas y lípidos de vesículas endocíticas.

Tienen una estructura tubulovesicular.

Tienen un pH de 6,2 a 6,5.

Cuerpos multivesiculares



Los **cuerpos multivesiculares** son compartimentos únicos que contienen vesículas en su lumen.

Reciben elementos endocitados que provienen de los endosomas tempranos.

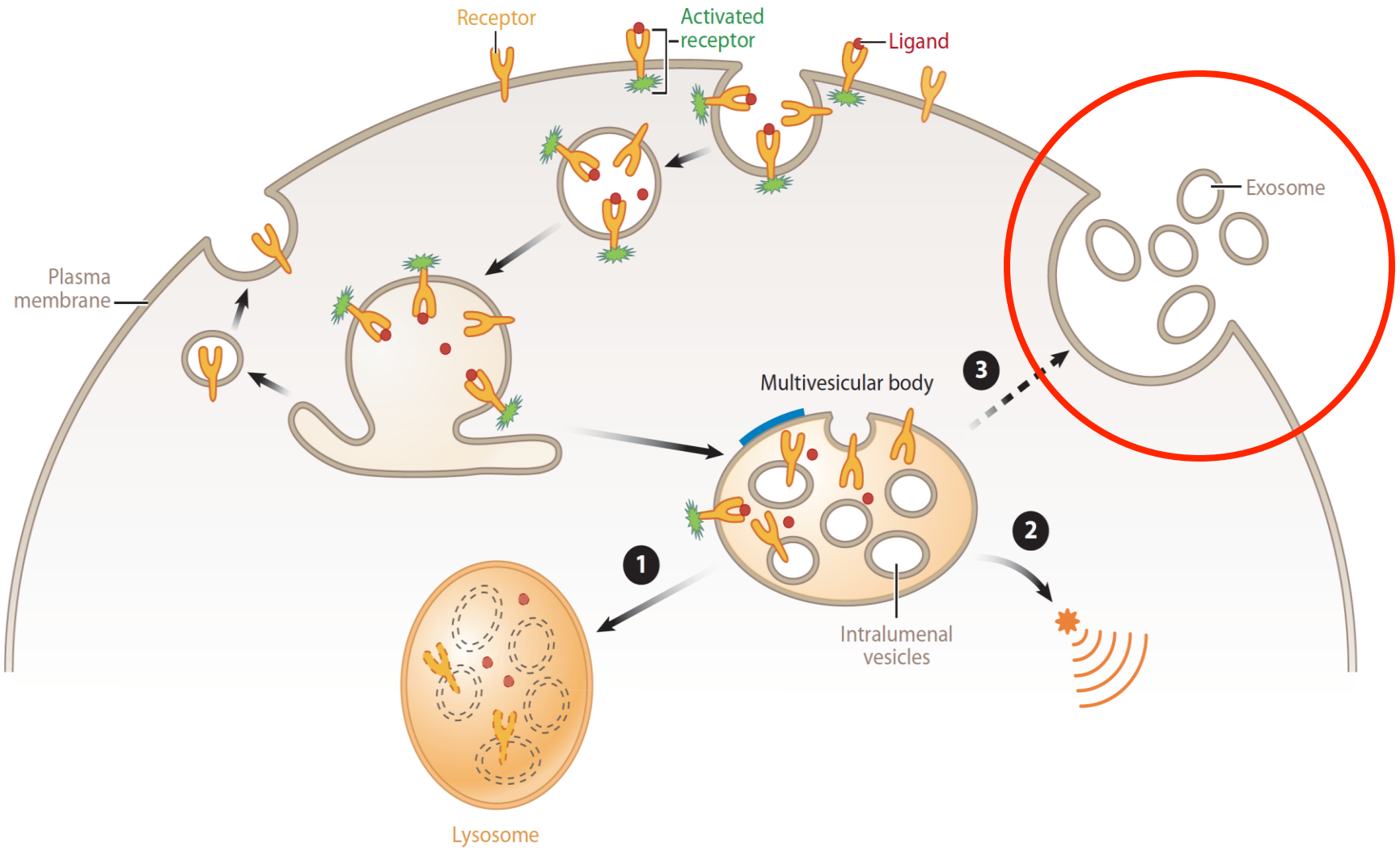
Se fusionan con endosomas tardíos

Se transforman en endosomas tardíos.

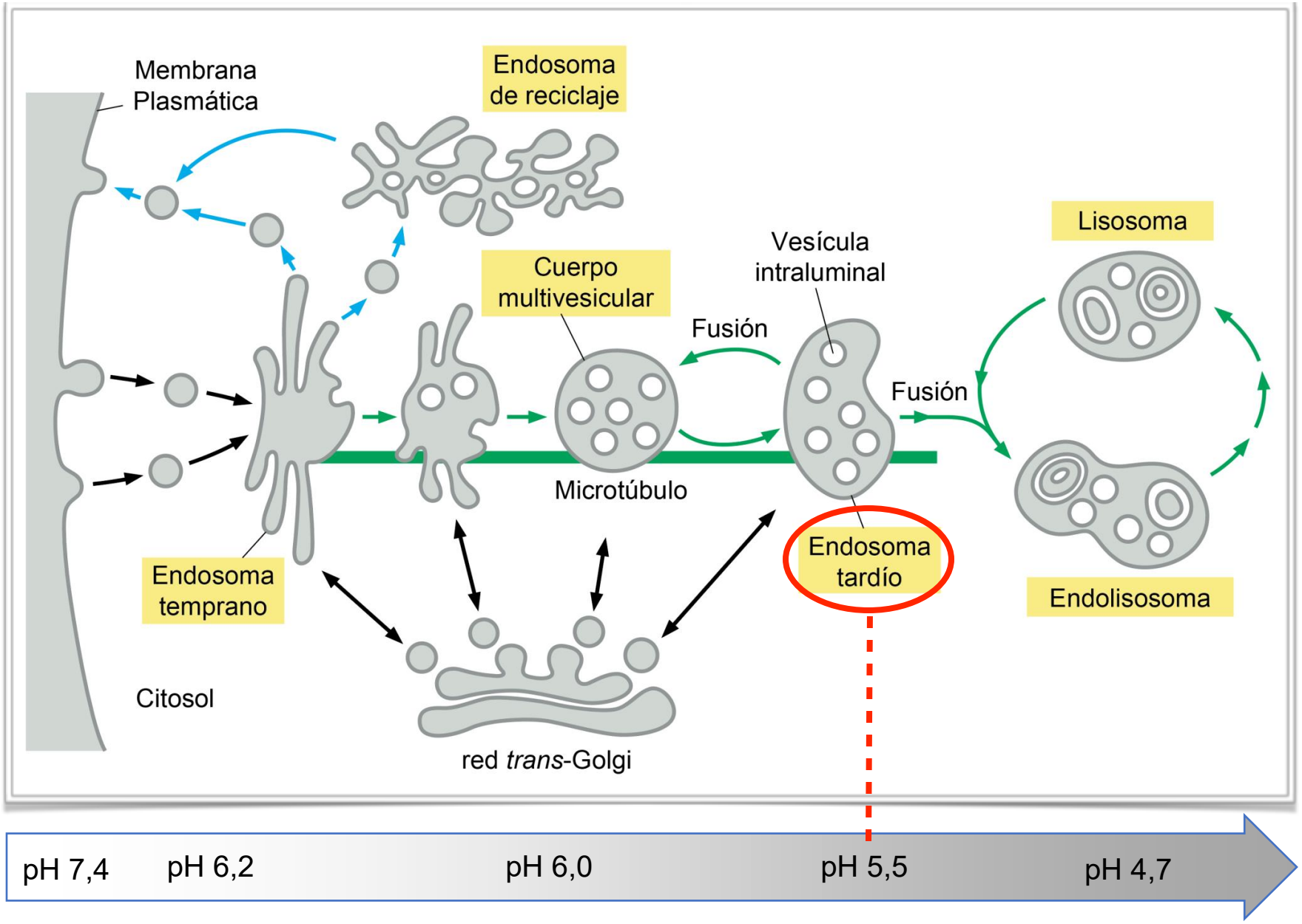
Tienen un pH entre 5,5 a 6,0.

UNIVERSIDAD SAN SEBASTIAN
VOCACIÓN POR LA EXCELENCIA

Cuerpos multivesiculares



Tipos de endosomas: endosomas tempranos y tardíos



Los **endosomas tardíos** se localizan cerca del aparato de Golgi y del núcleo.

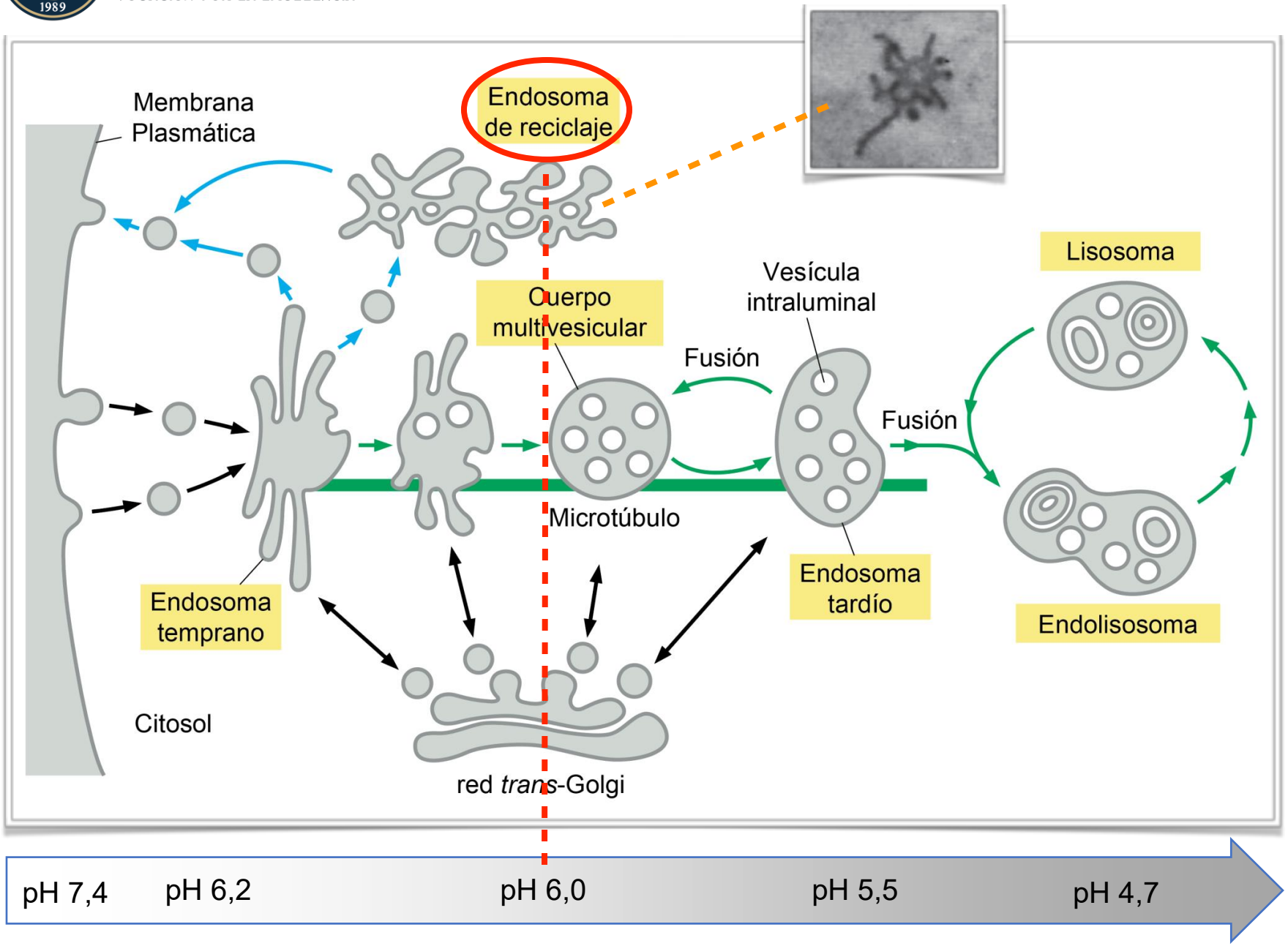
Reciben elementos endocitados en ruta a los lisosomas para ser degradados.

También se denominan pre-lisosomas.

Tienen una estructura más esférica y contienen vesículas intraluminales.

Tienen un pH de 5,5.

Tipos de endosomas: endosomas tempranos y tardíos



Los **endosomas de reciclaje** se localizan cerca del aparato de Golgi y del núcleo.

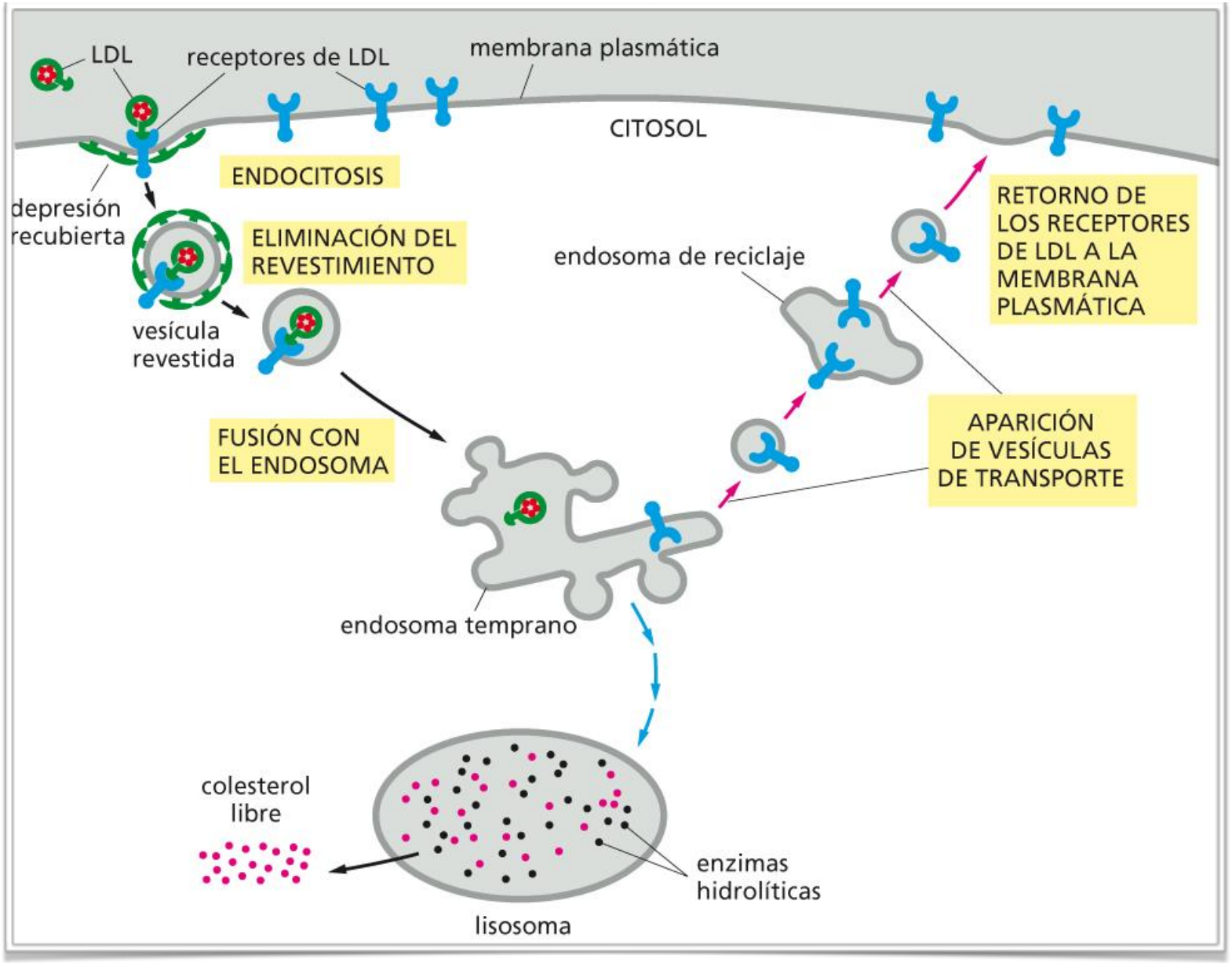
Reciben elementos endocitados que provienen de los endosomas tempranos.

Permiten el reciclaje a la membrana plasmática de elementos endocitados.

Tienen una estructura tubular anastomosada.

Tienen un pH entre 5,5 a 6,0.

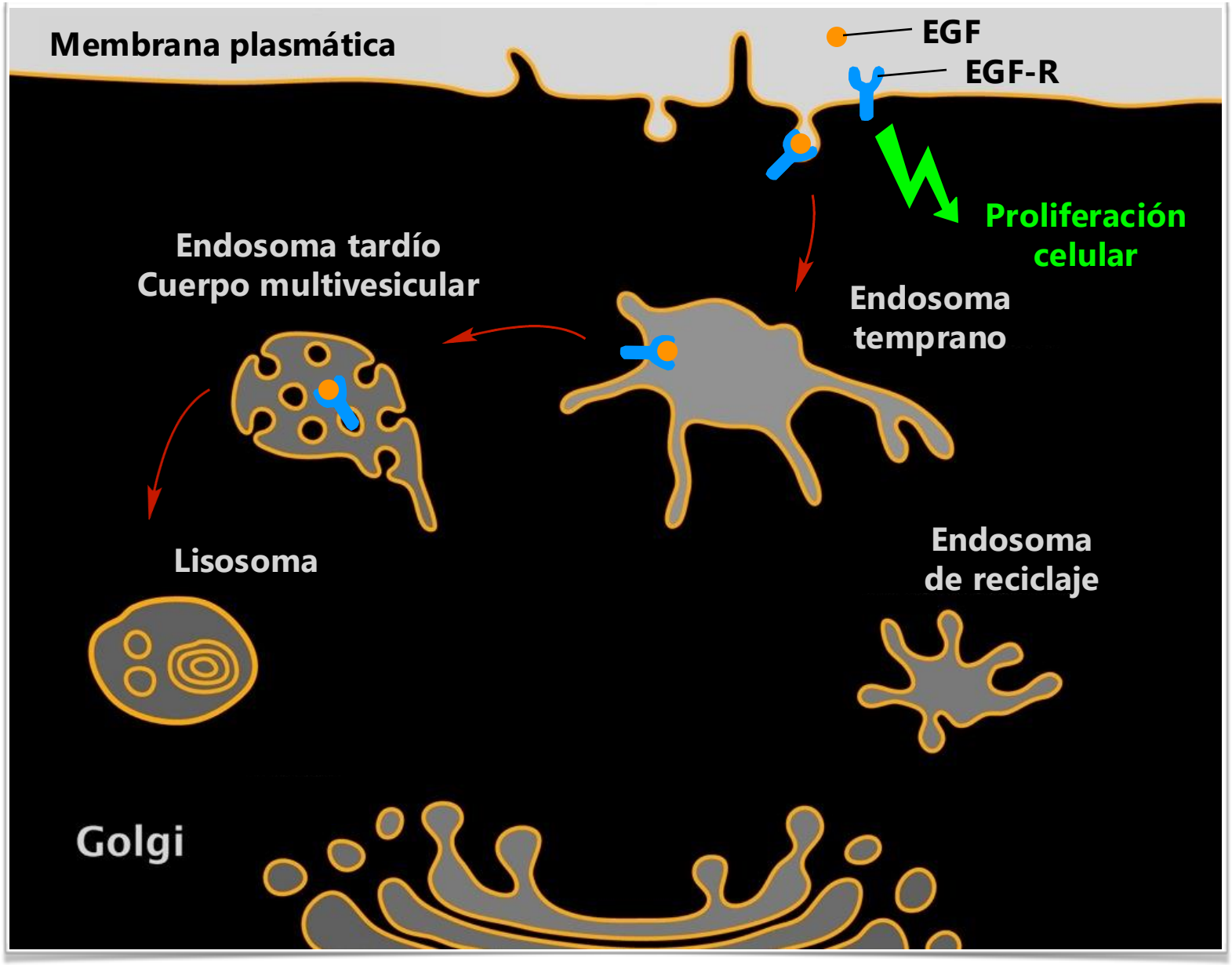
Endocitosis: reciclaje versus degradación de receptores



Endocitosis nutricional

El LDL-R se recicla para nuevas rondas de incorporación de nutrientes

Endocitosis: reciclaje versus degradación de receptores

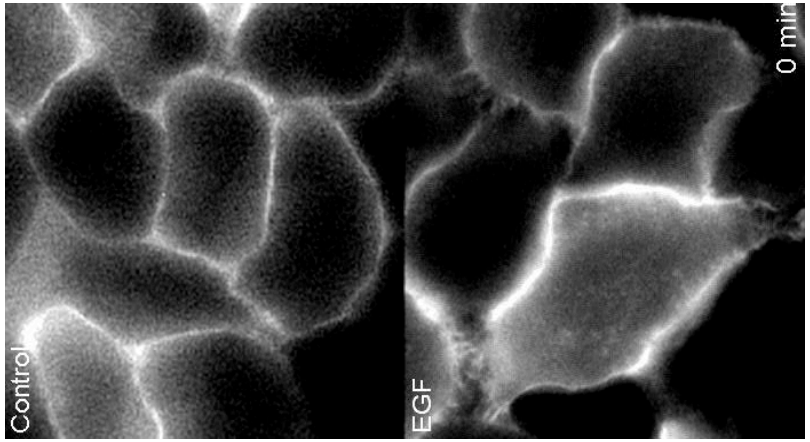


Endocitosis señalizante

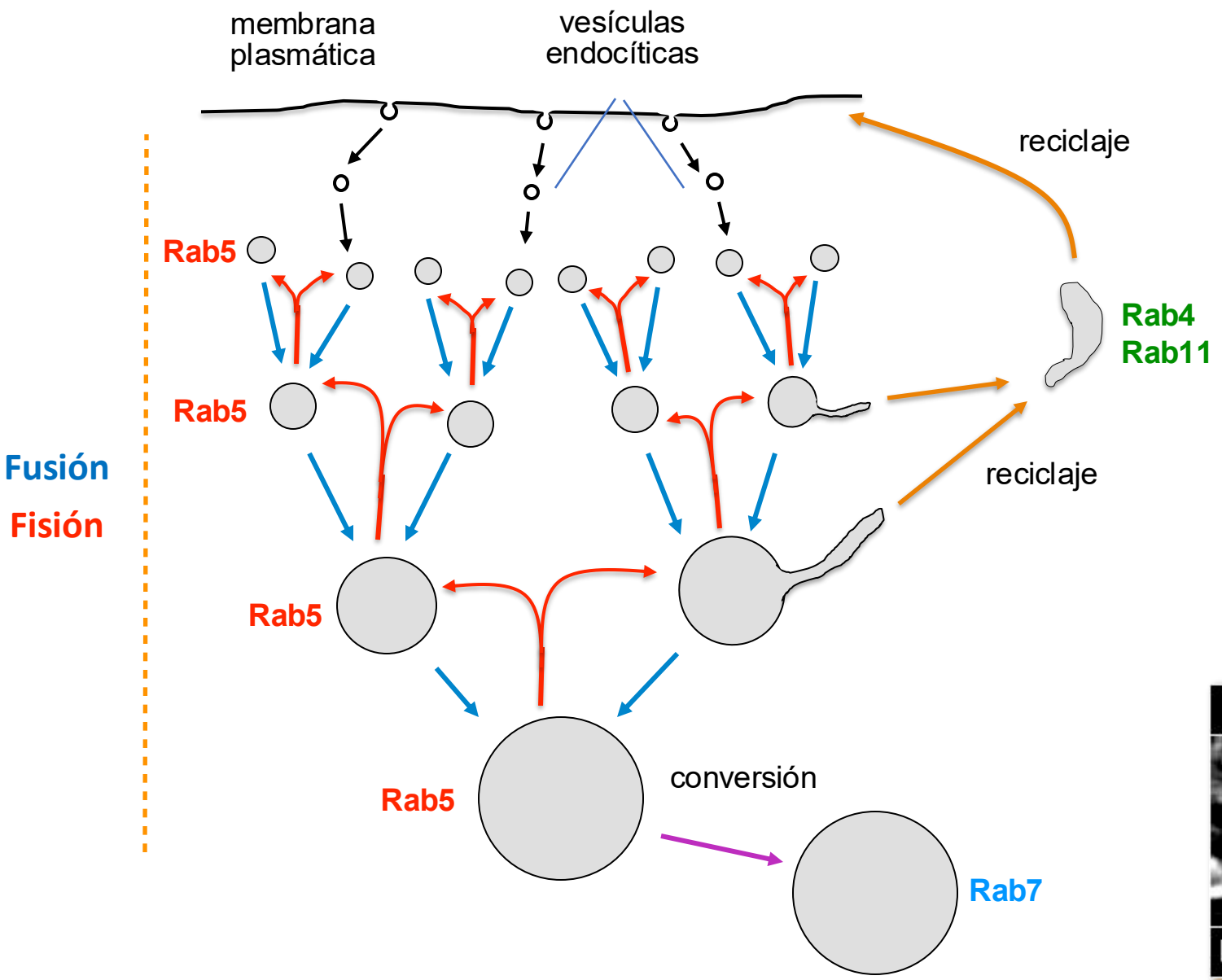
Endocitosis inducida por ligando: factor de crecimiento (EGF-R)

El receptor del factor de crecimiento epidermal (EGF-R) se degrada para eliminar su función

Alteraciones pueden producir cáncer



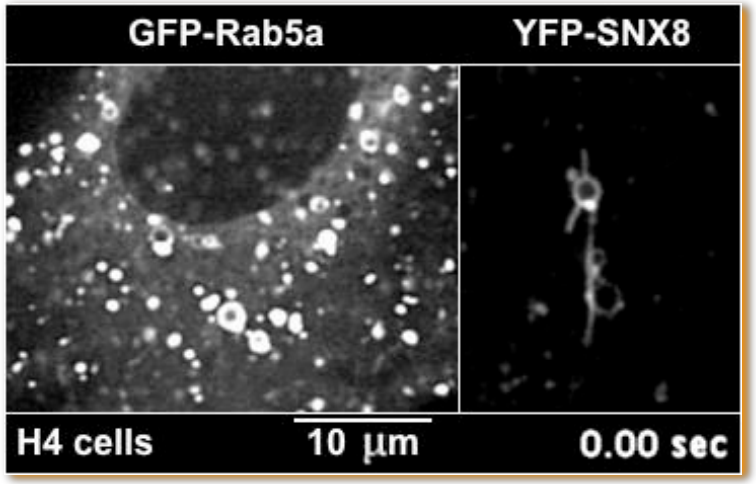
Endosomas tempranos: organización y dinámica

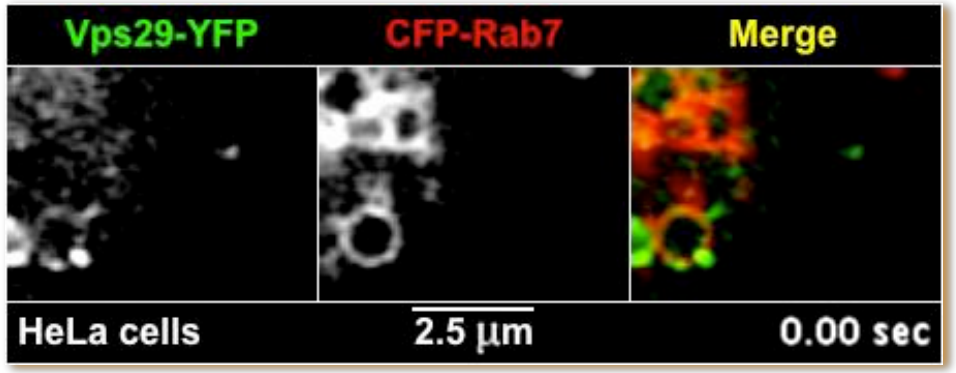


Varían de tamaño según el balance entre eventos de fusión y fisión

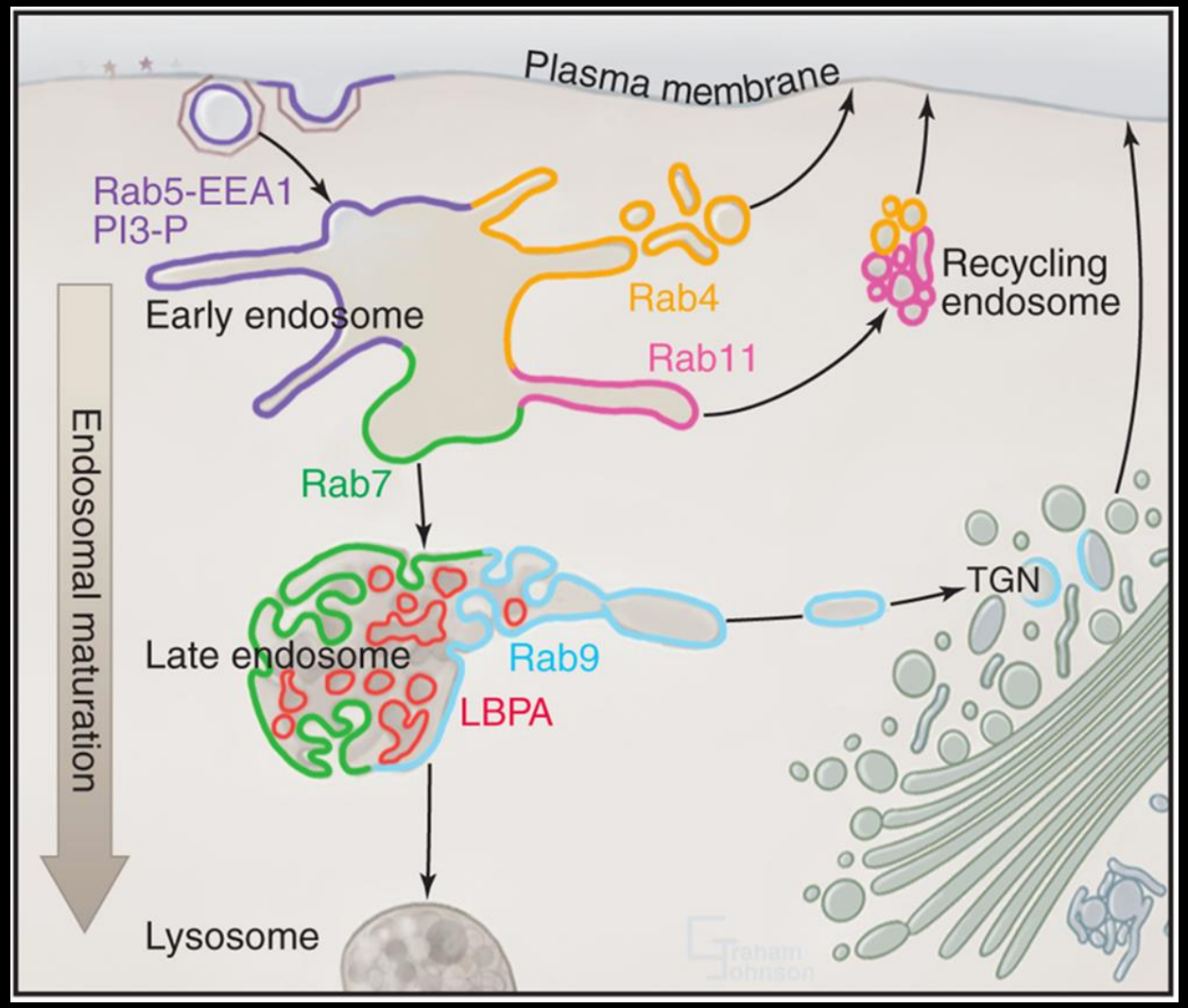
Se reubican desde la periferia hacia el interior de la célula

Regulados por GTPasas Rab

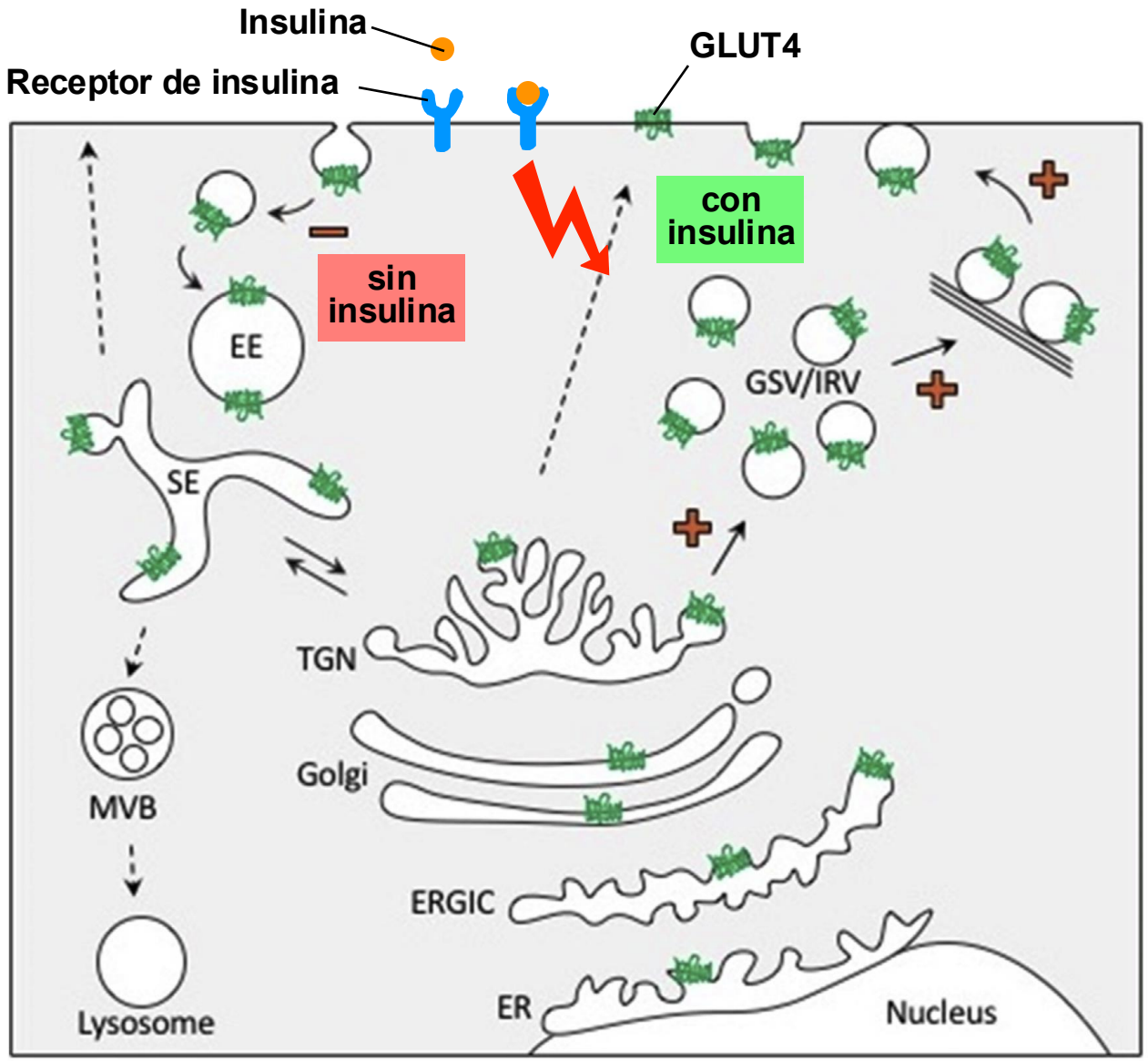




Dominios en el sistema endosomal



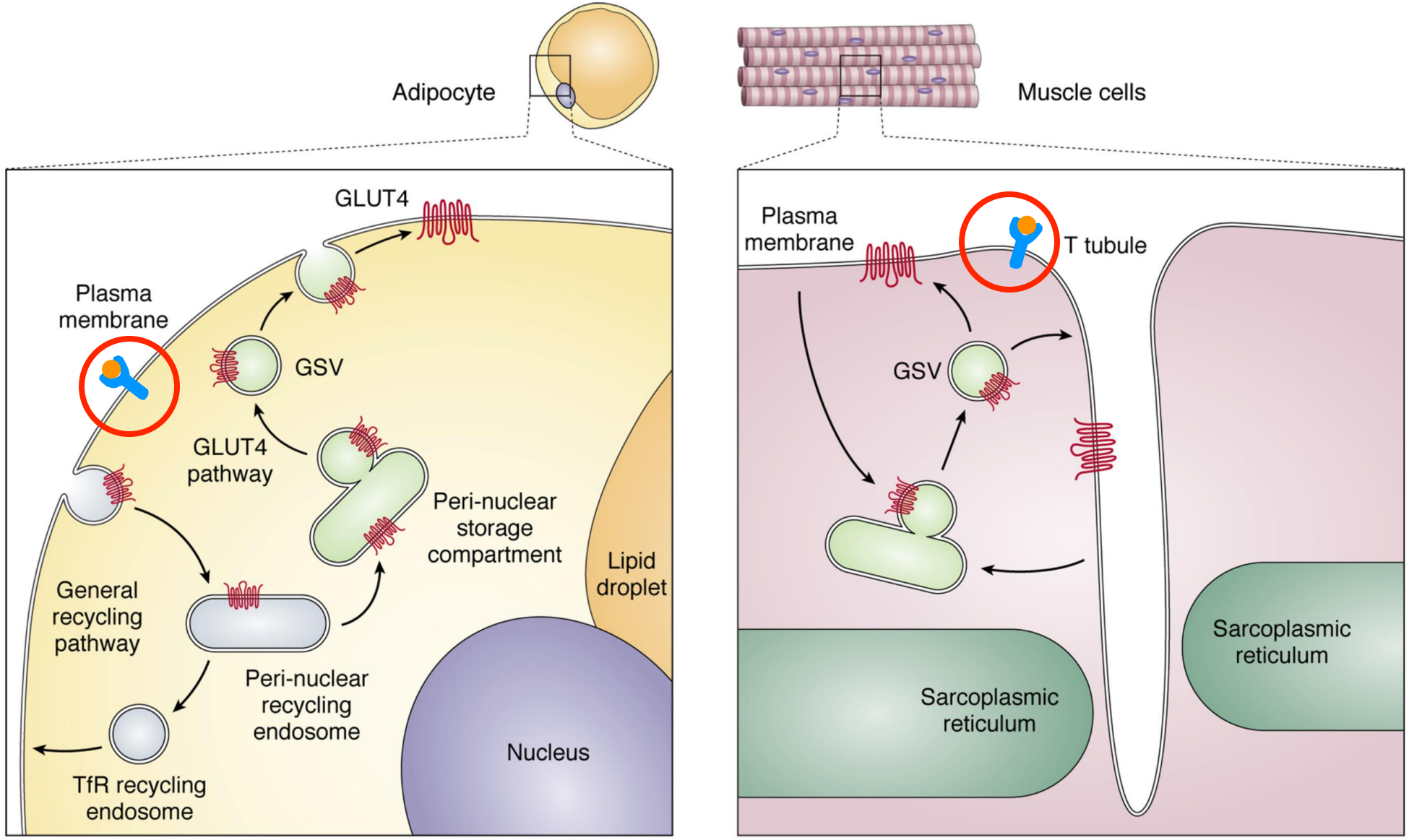
Endocitosis del receptor de insulina (I-R) y del transportador de glucosa GLUT4 regulado por insulina



El receptor de insulina emite señales bioquímicas que promueven la exocitosis de GLUT4

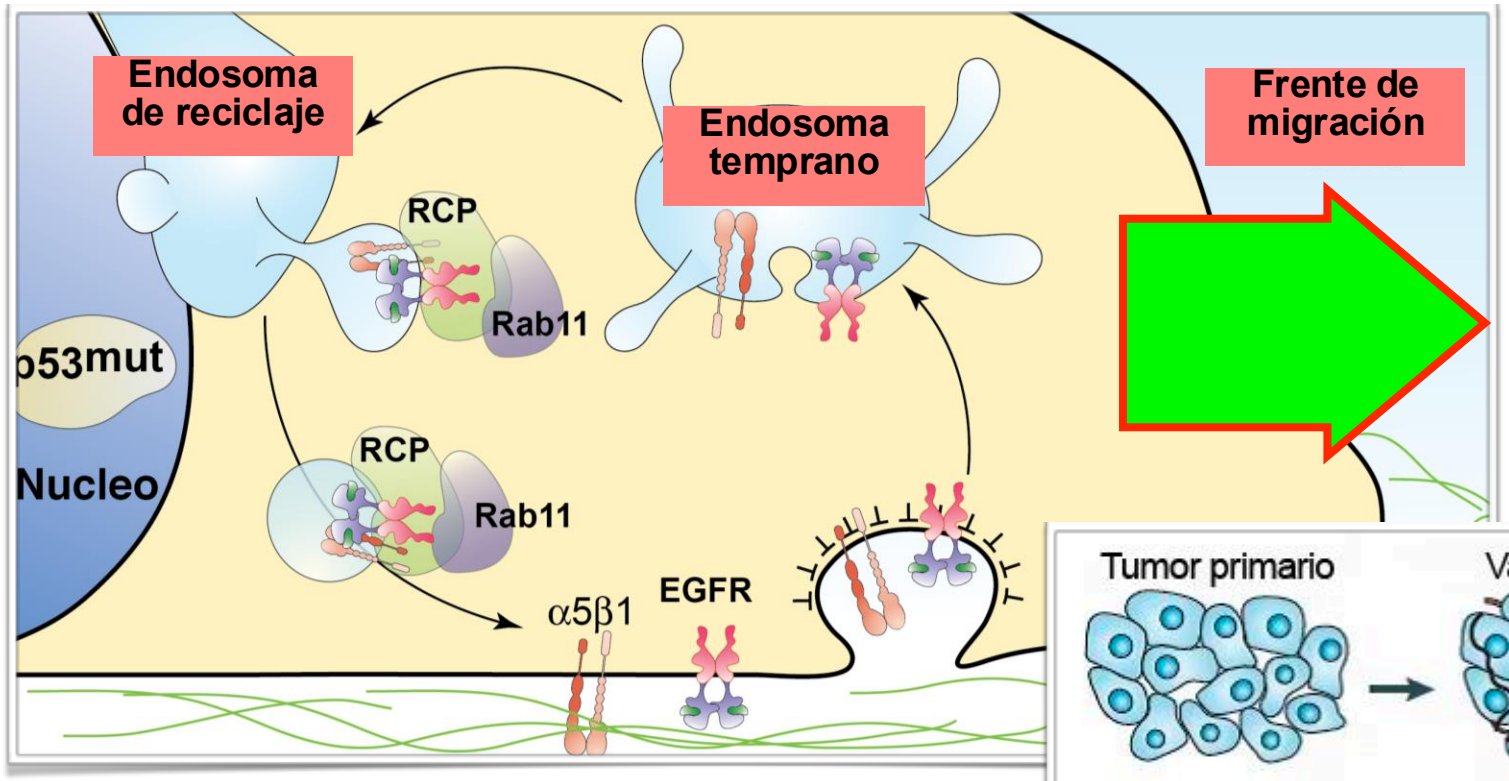
Un desbalance en la tasa de endocitosis y de reciclaje del receptor de insulina puede contribuir a la resistencia a la insulina

Endocitosis del receptor de insulina y del transportador de glucosa GLUT4 regulado por insulina

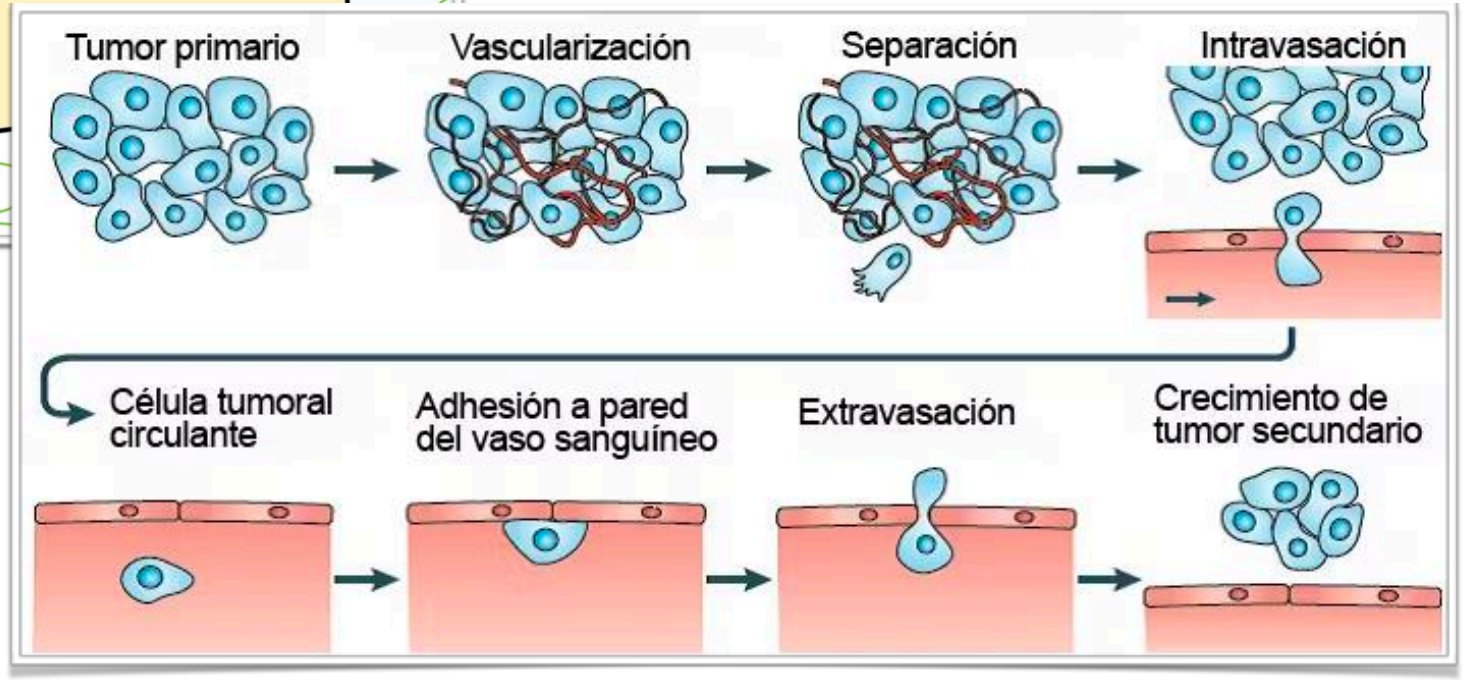


El receptor de insulina y GLUT4 en adipocitos y músculo

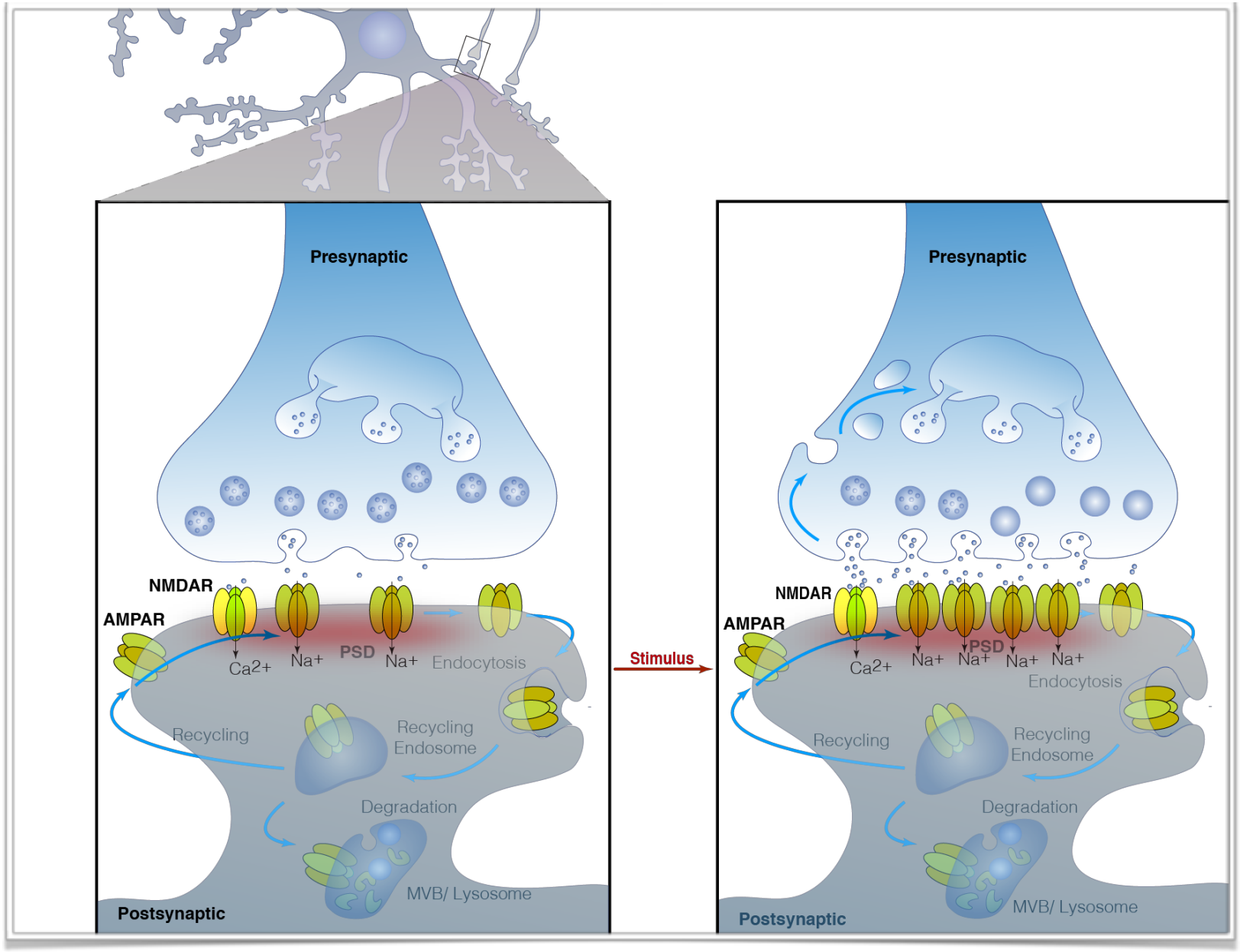
Reciclaje de EGF-R junto con integrinas son importantes en la migración y en cáncer está alterado



Mecanismo de reciclaje mediado por Rab11



Reciclaje en la región post-sináptica refuerza los procesos de memoria



Endocitosis en la región sináptica

Reciclaje de receptores

Reciclaje de membrana

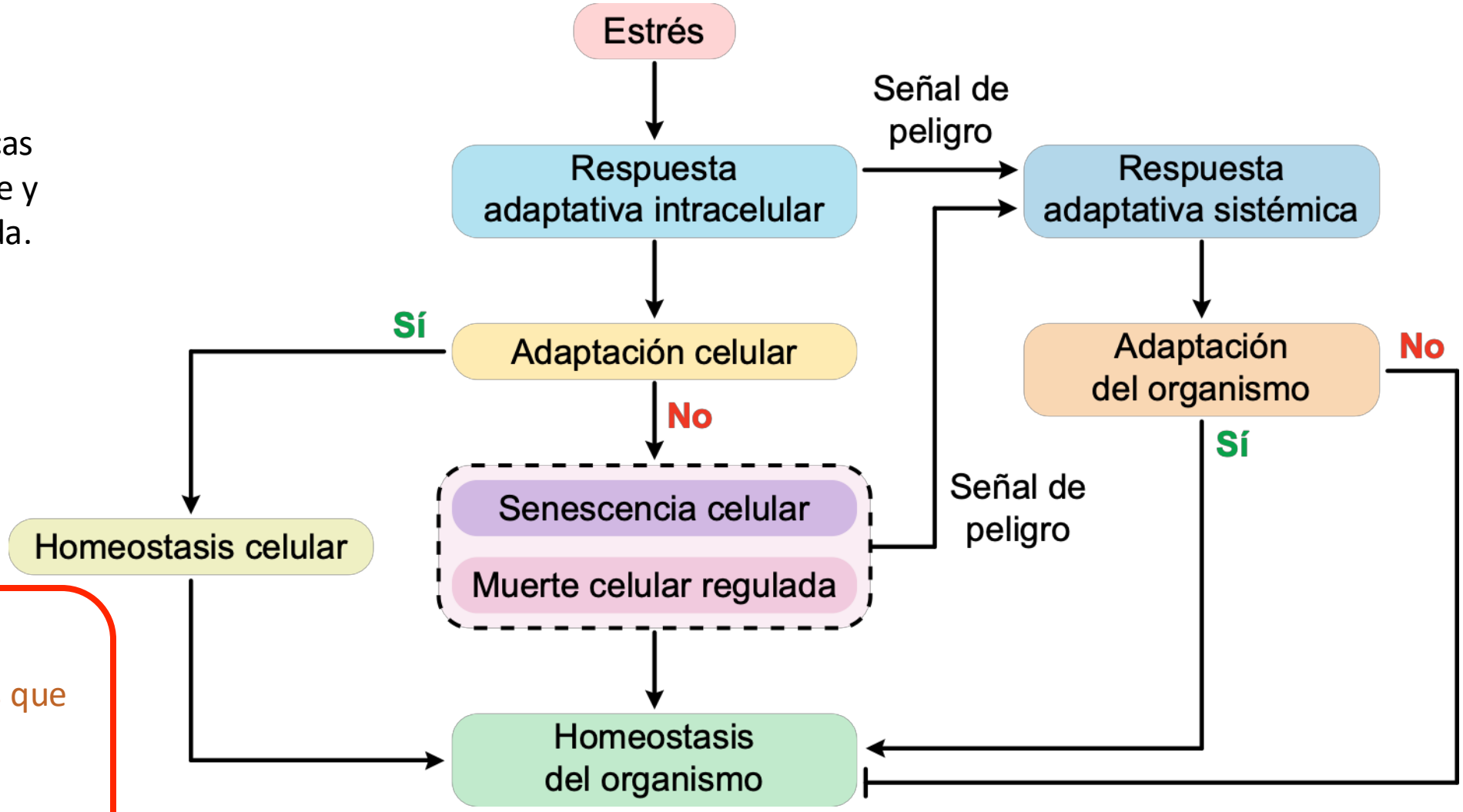
El reciclaje lleva a un aumento de receptores glutamatérgicos en la densidad post-sináptica durante procesos de memoria

Homeostasis

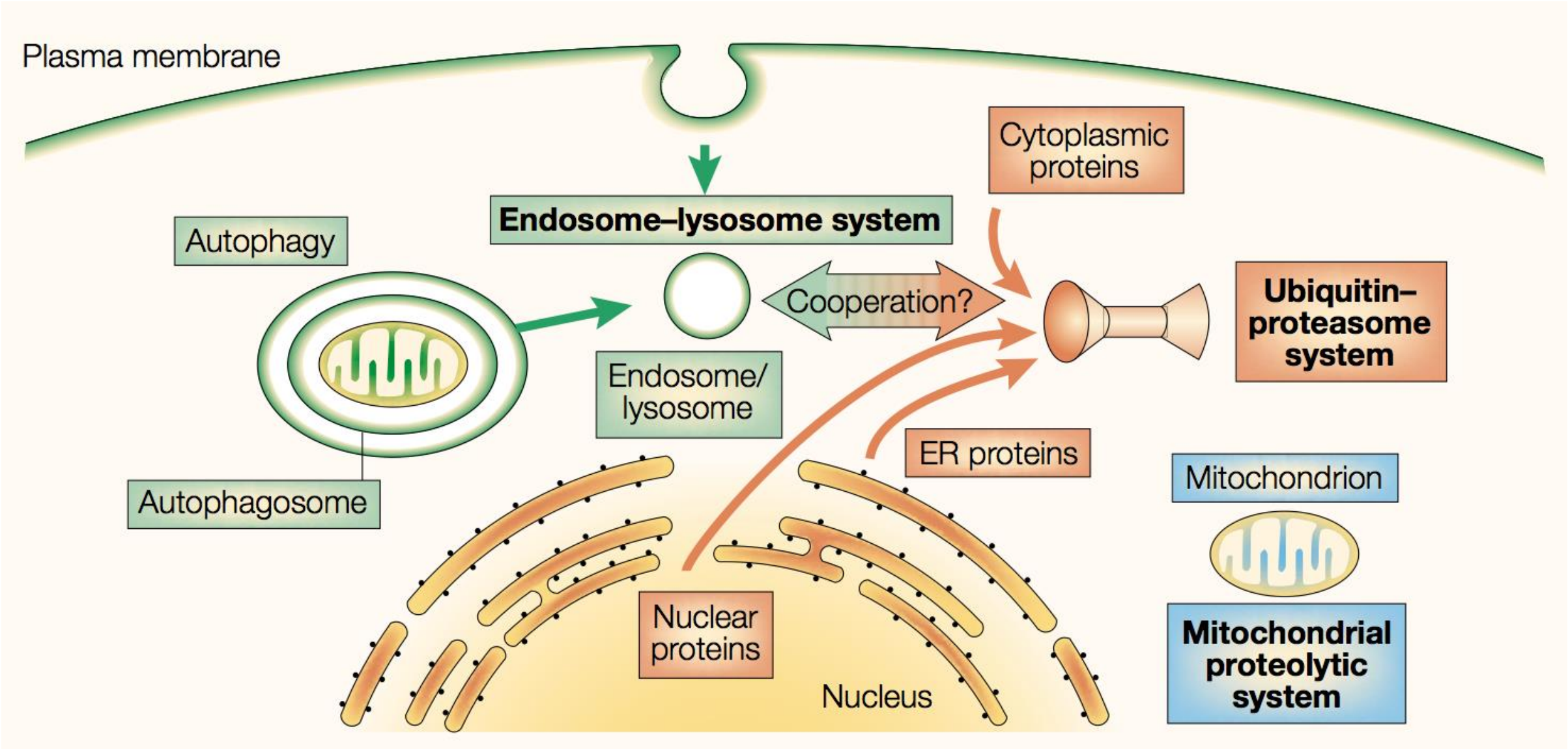
Homeostasis:
estado constante de las condiciones físicas y químicas que un organismo mantiene y que es necesario para la vida.

Homeostasis celular:
estado constante de los componentes celulares necesario para el funcionamiento celular.

Proteostasis:
integración de mecanismos que controlan la síntesis, plegamiento, tráfico y degradación de proteínas dentro y fuera de la célula.



Proteostasis



Proteostasis: Homeostasis de proteínas

Sistemas de control de calidad en la homeostasis celular

Sistema Ubiquitina/Proteasoma
- Ubiquitnación: Marca para degradación
- Estructura y función del proteasoma

Autofagia

1. Macroautofagía
- No-selectiva
- Selectiva (Microfagia, Agregofagia, Retículofagia, Xenofagia)

2. Microautofagia

3. Autofagia mediada por chaperonas (CMA)

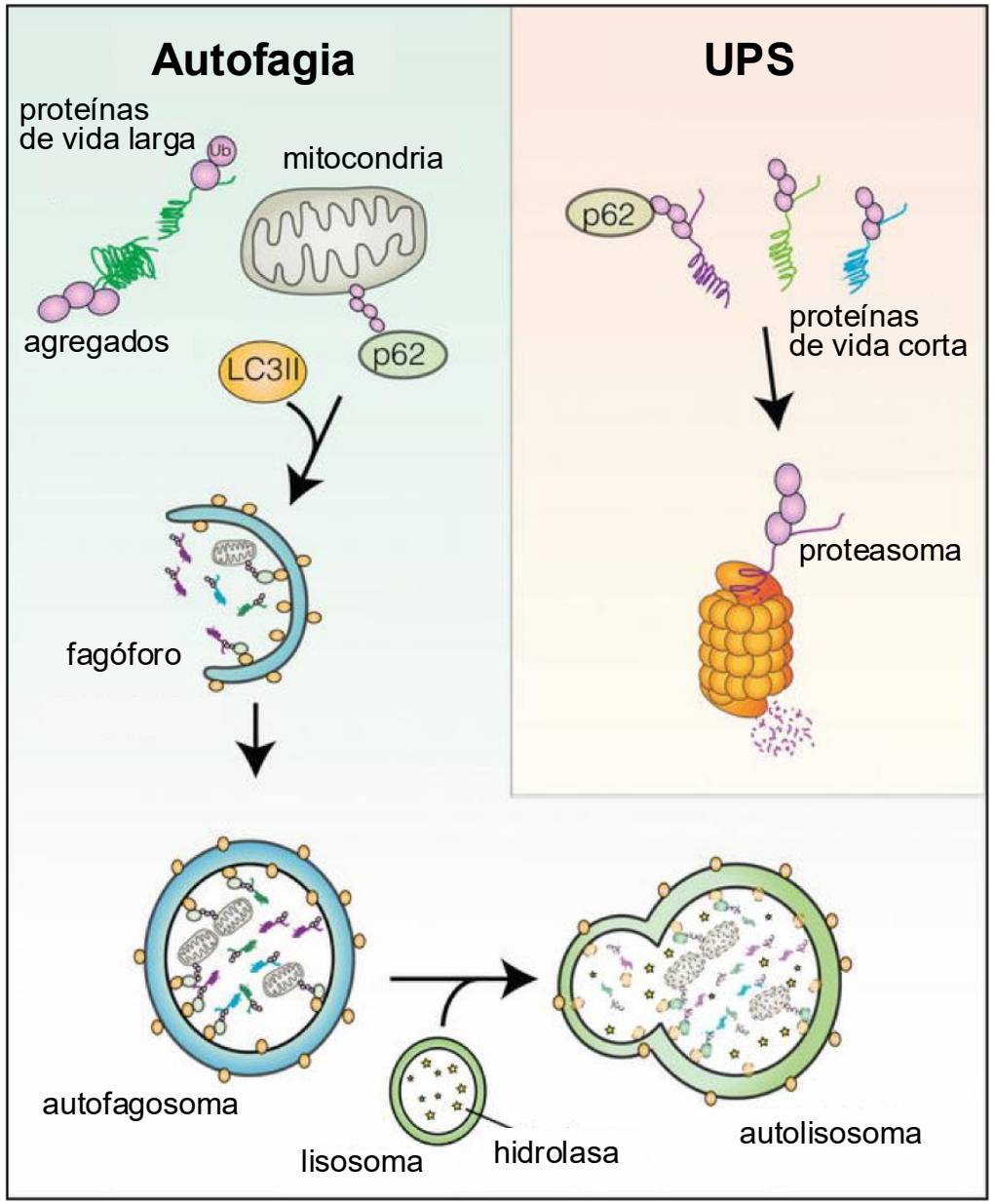
Control de calidad en el retículo endoplásmico
- ERAD (ER Associated Degradation) Degradación asociada a control de calidad en el RE
- ERLAD (ER-Lysosome Associated Degradation) Degradación asociada a RE y lisosomas

Homeostasis y defensa celular
- Eliminación de proteínas dañadas
- Eliminación de agregados moleculares
- Eliminación de organelos
- Eliminación de patógenos

La proteostasis es uno de los procesos que se deterioran con la edad contribuyendo a enfermedades del envejecimiento

Proteostasis: Degradación de proteínas

Las dos vías clave de degradación de proteínas celulares para asegurar la proteostasis son
la autofagia
y
el sistema ubiquitina proteasoma (UPS)

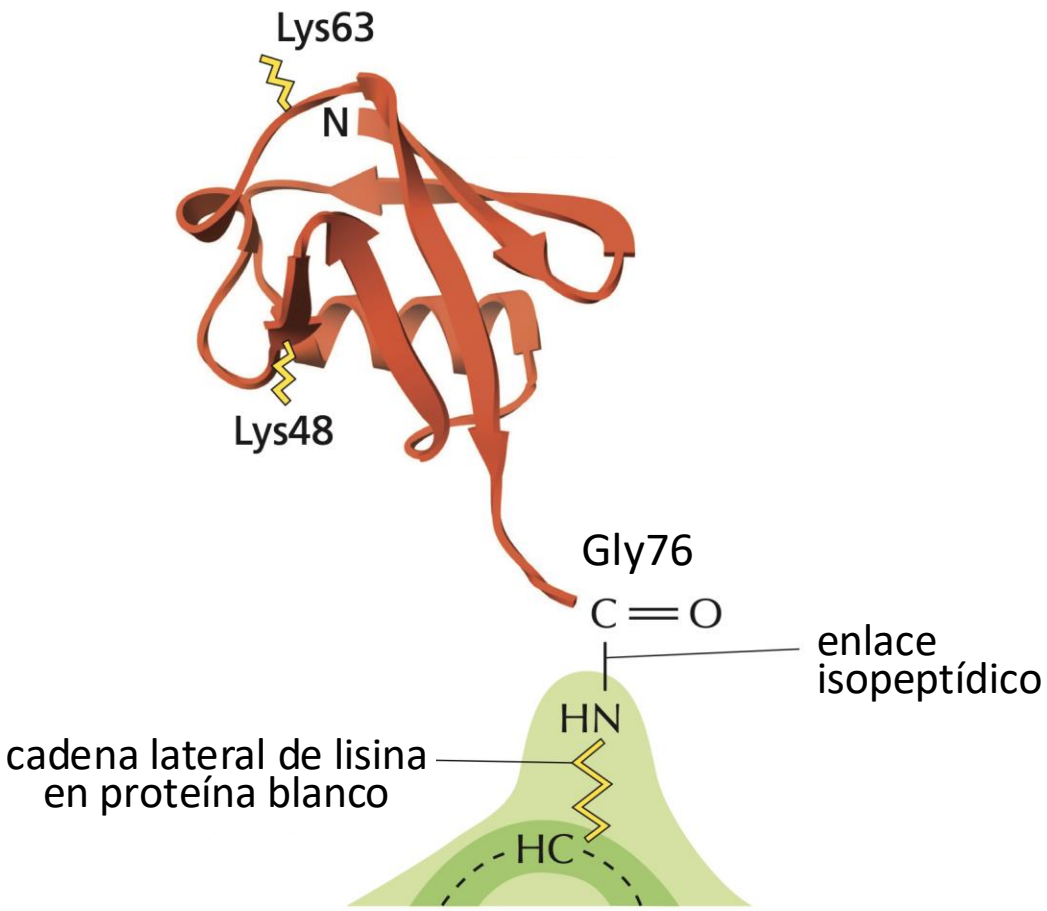


Autofagia: proteínas de vida larga y proteínas agregadas

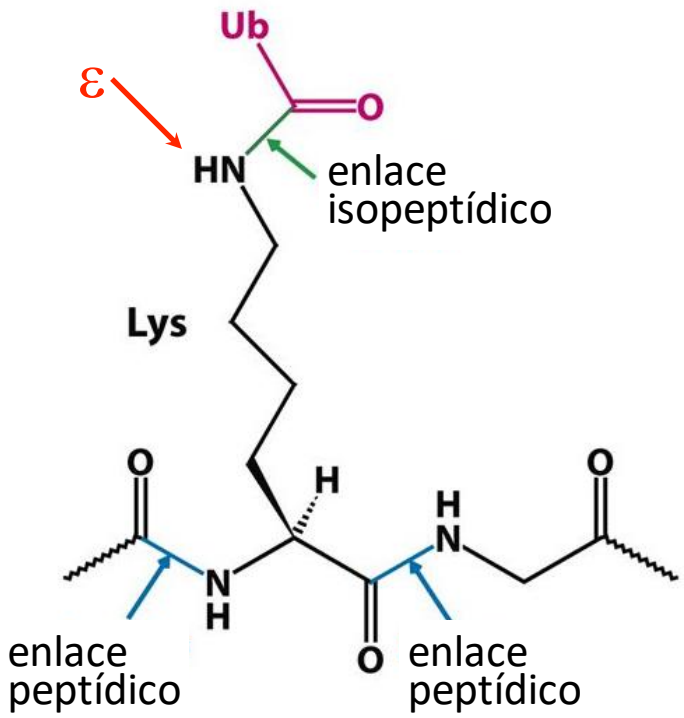
UPS: proteínas de vida corta no agregadas

UPS: Sistema Ubiquitina-Proteasoma

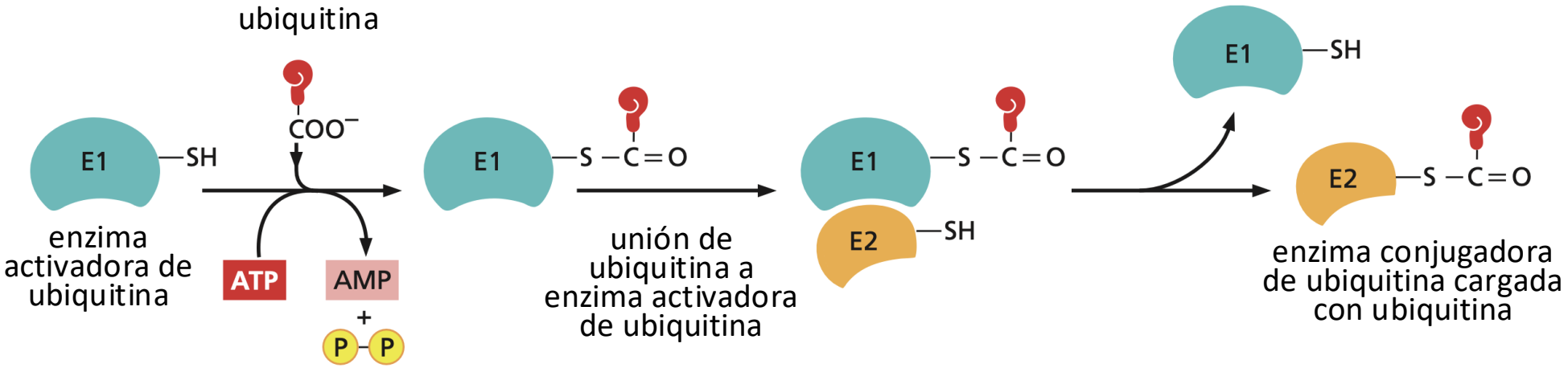
Ubiquitina

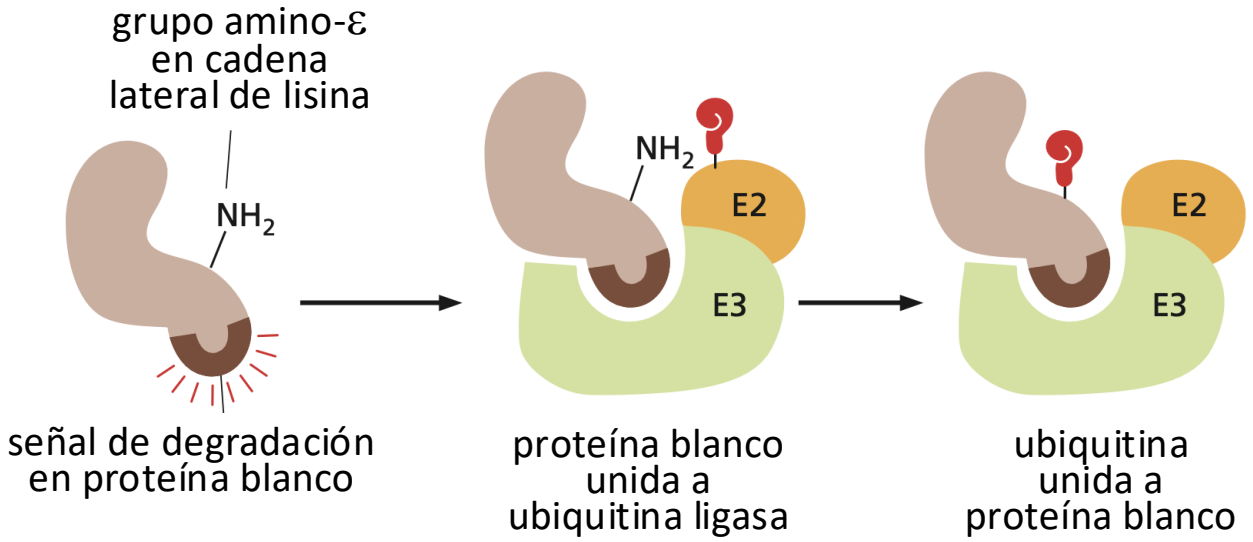


La ubiquitina se adiciona al grupo amino-épsilon (ε) del sustrato proteico



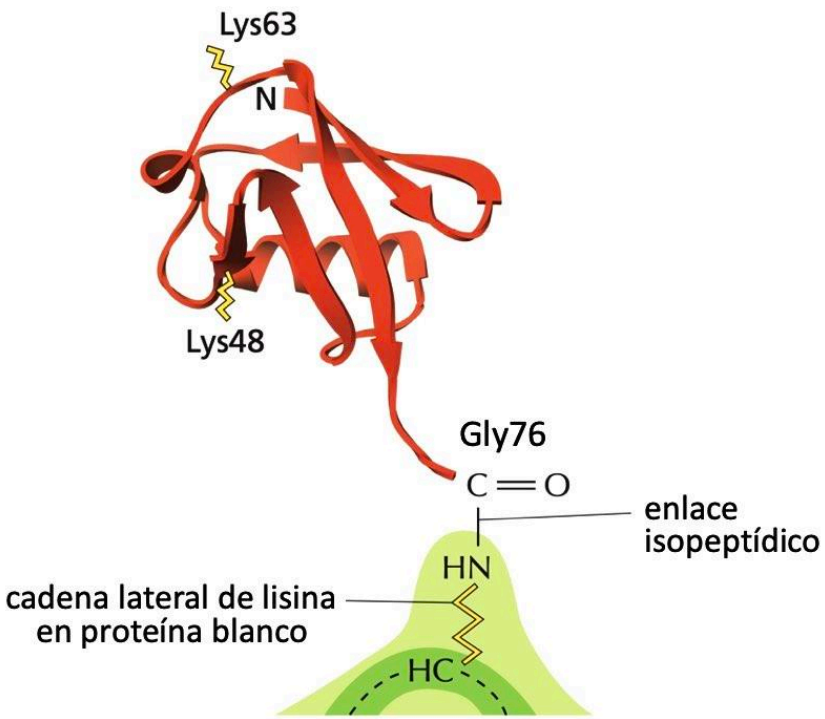
Etapas de la ubiquitinación: Enzimas E1, E2 y E3

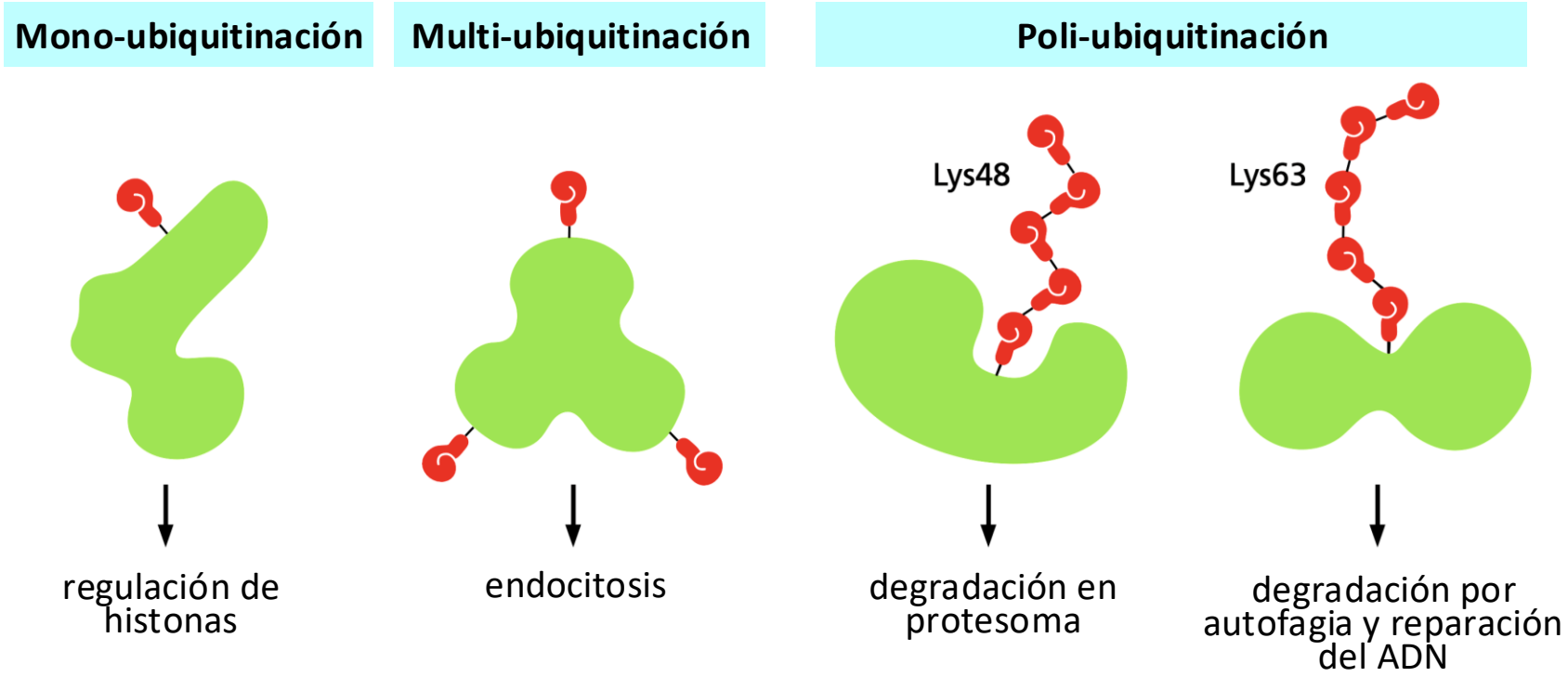




Las enzimas E3 ubiquitina ligasas adicionan ubiquitina a los grupos amino-épsilon (ε) de las lisinas del sustrato

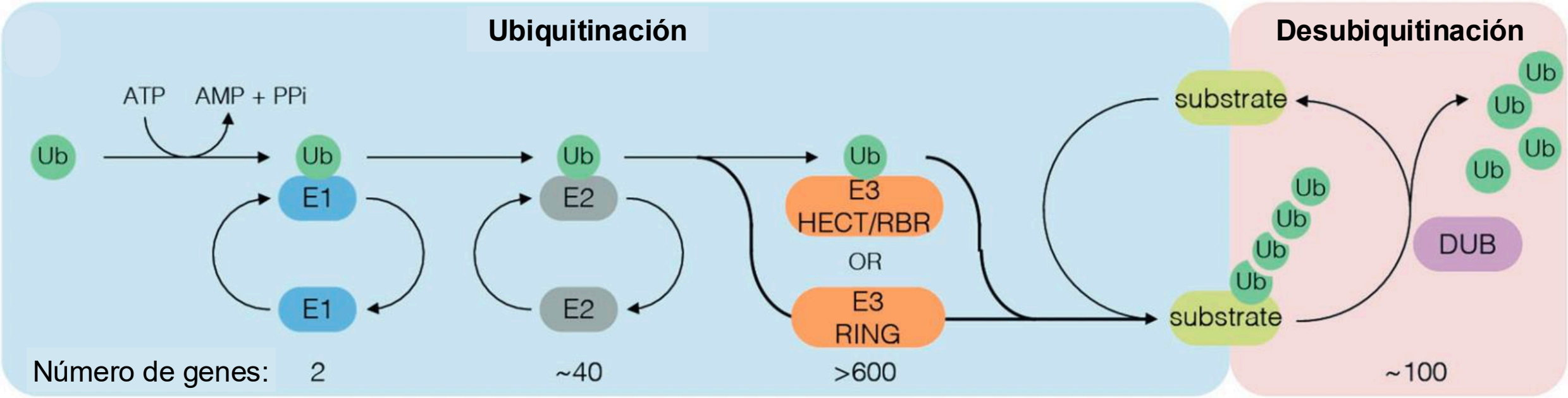
Tipos de ubiquitinación y sus funciones





Poli-ubiquitinación:
Ubiquitinación de las lisinas de las ubiquitinas en el sustrato

El ciclo ubiquitinación y desubiquitinación

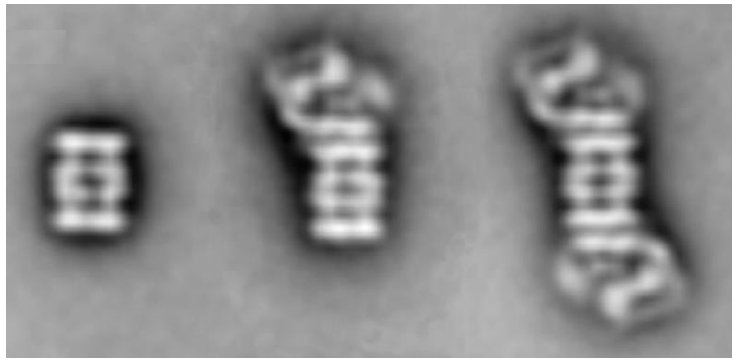


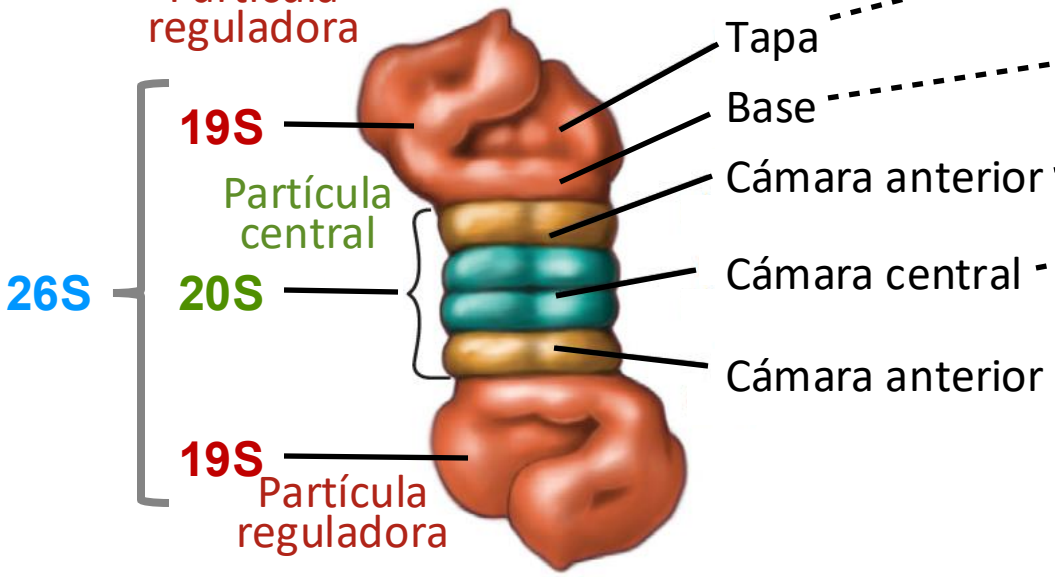
Existen más de 600 E3 ubiquitina ligasas

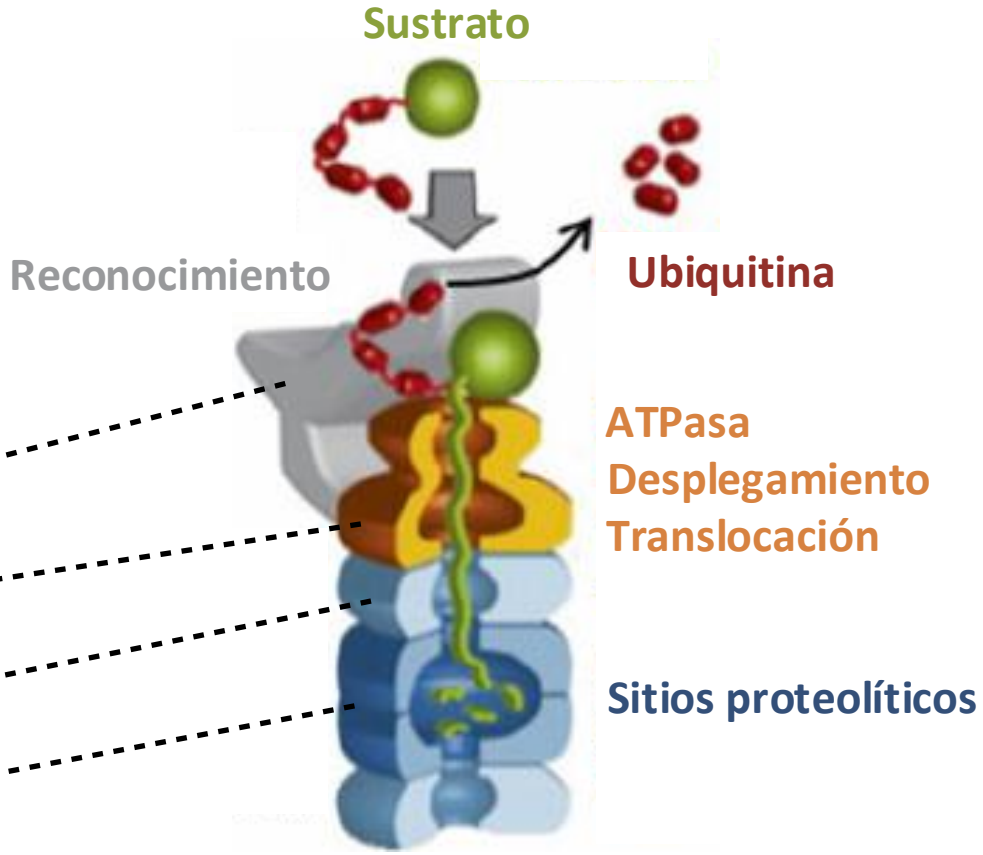
- E3 ligasas tipo HECT/RBR se ubiquitinan al unir E2 y luego traspasan la ubiquitina al sustrato
- E3 ligasas tipo RING traspasan ubiquitina directamente desde la E2

Enzimas desubiquitinasas (DUB)

El proteasoma

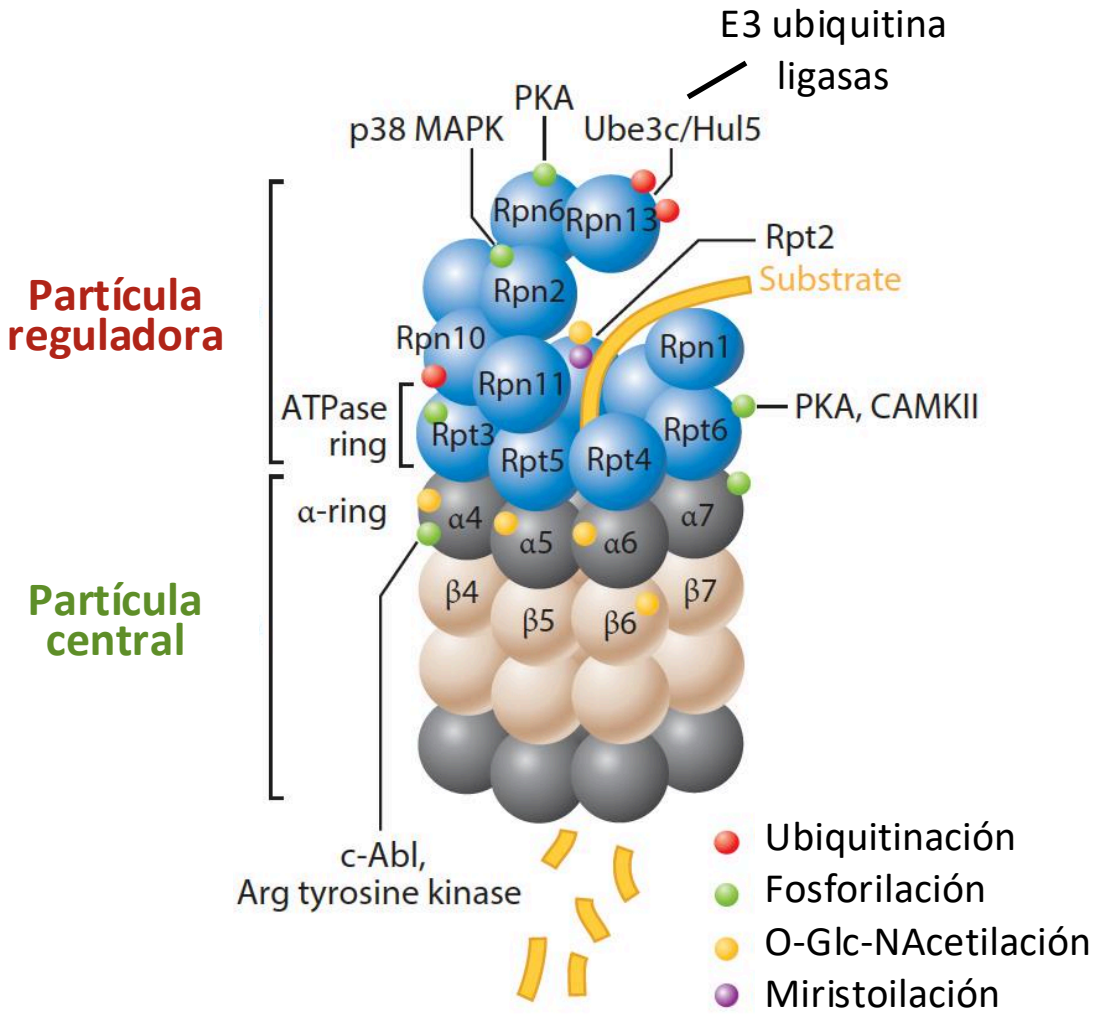






Degradación de proteínas en el núcleo del proteasoma formado por enzimas proteolíticas

Regulación de la función del proteasoma

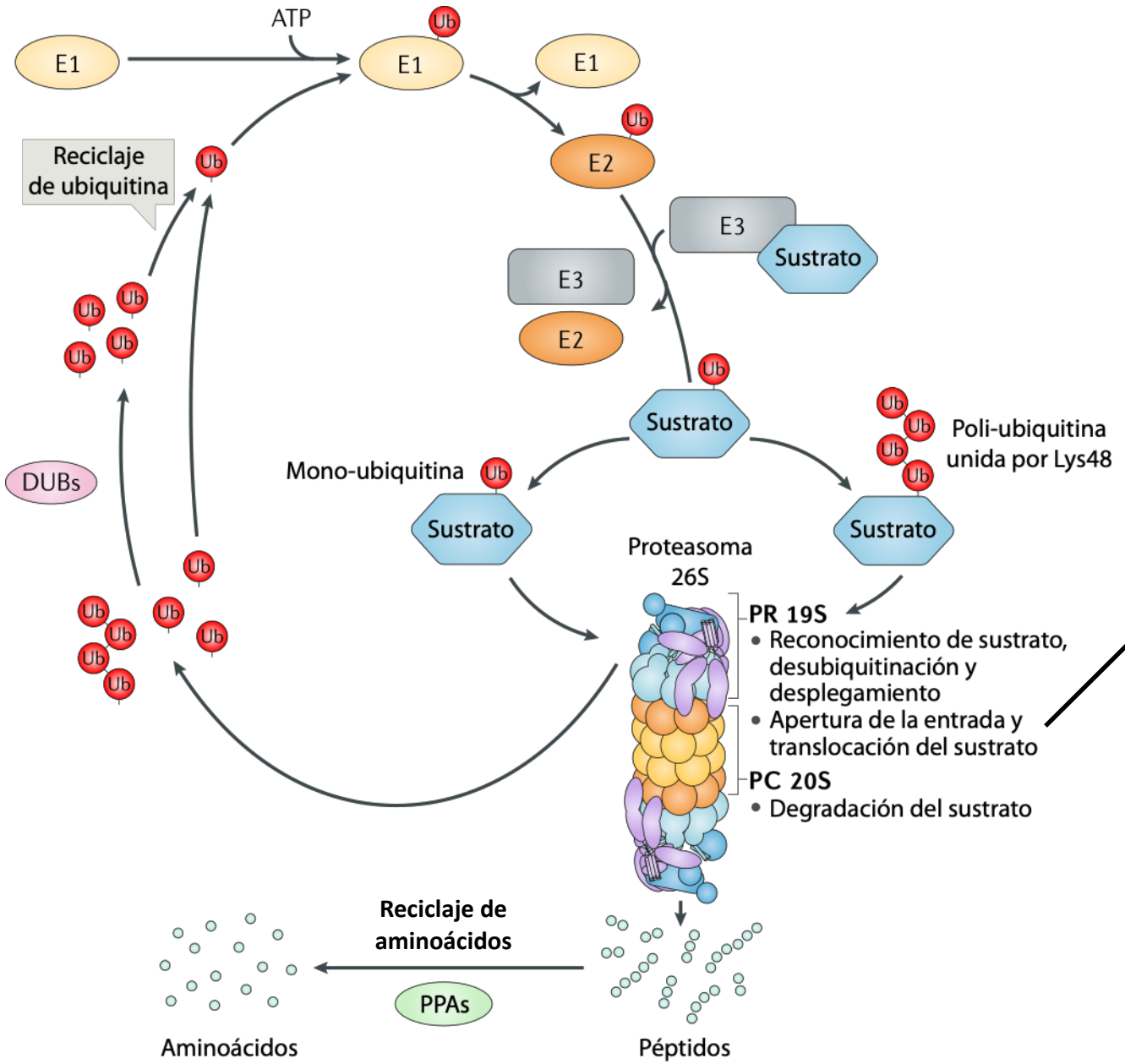


Regulación por quinasas de señalización intracelular

- **PKA**
- **CAMKII**
- **MAPK p38**
- **c-Abl**

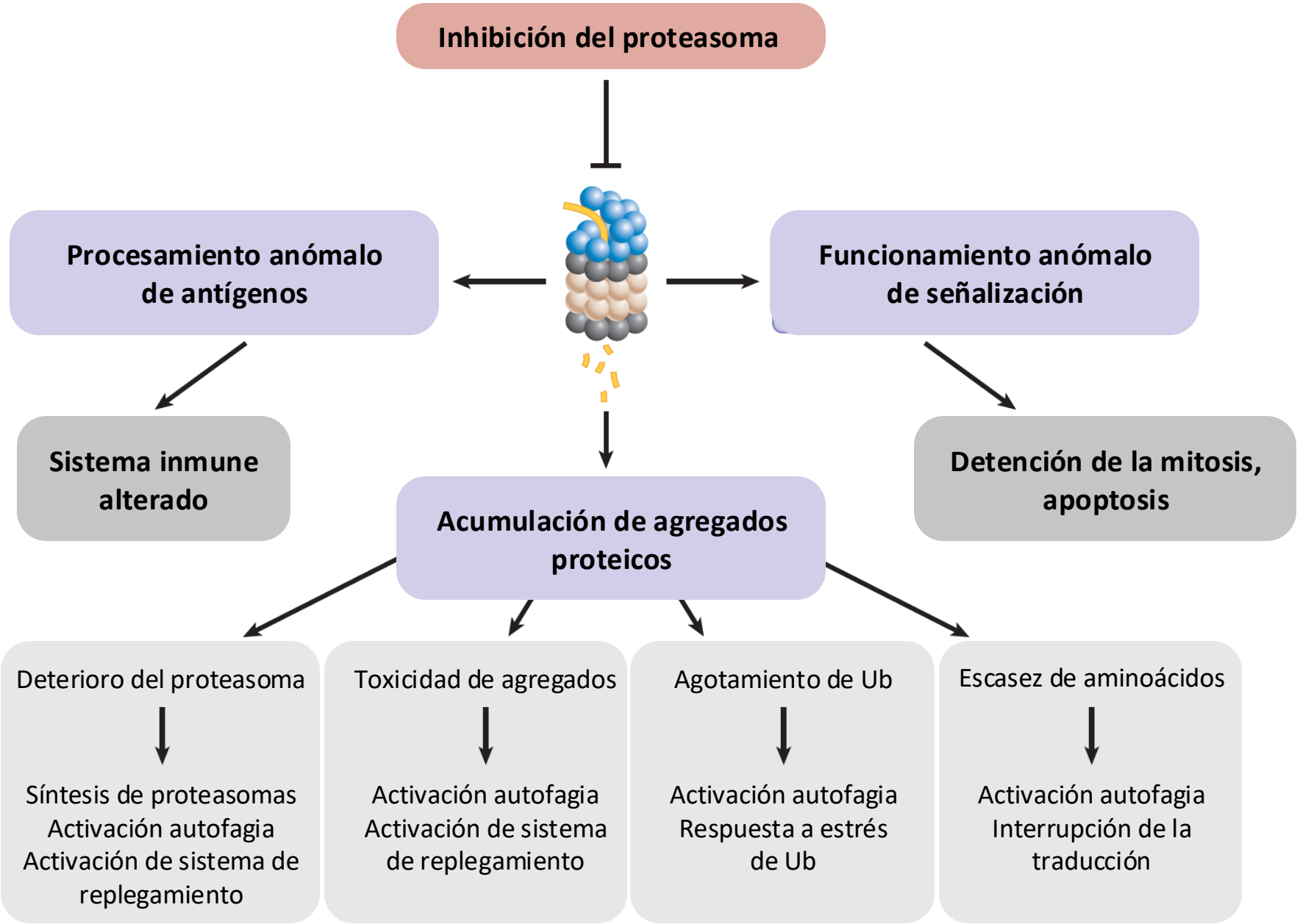
Modificaciones en distintas subunidades

Ubiquitinación como señal de degradación en el proteasoma

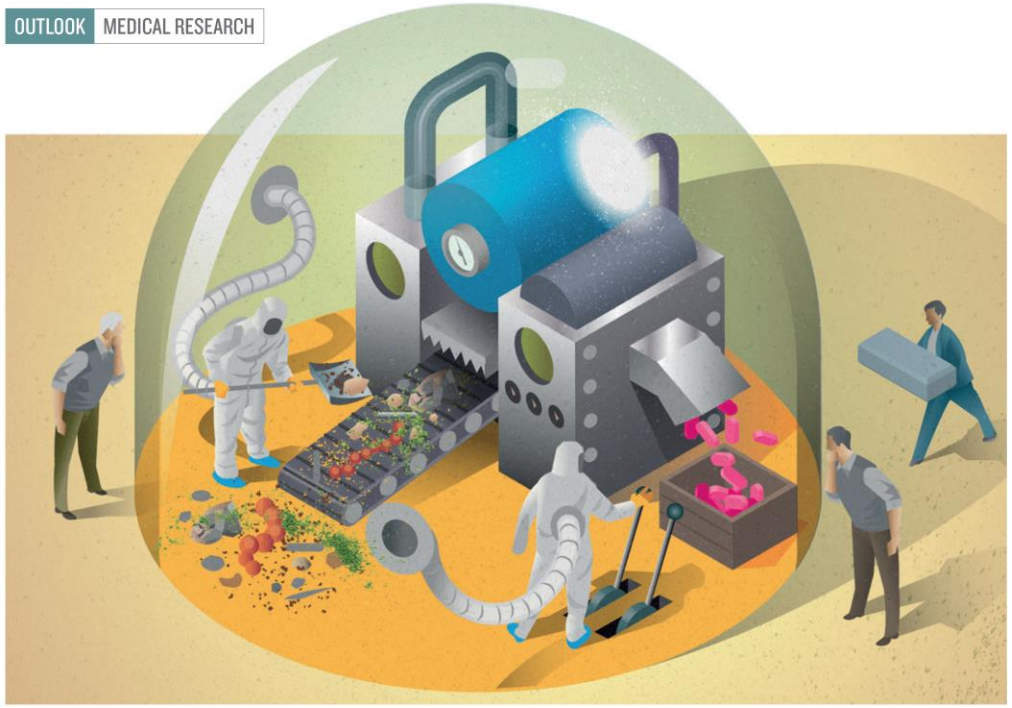


- Control de calidad (proteínas dañadas o desplegadas)
- Respuesta a estrés (proteínas oxidadas)
- Ciclo celular (p21, p53)
- Transducción de señales (Nf-kB)
- Respuesta inmune (presentación de antígenos)

El proteasoma en diversas funciones celulares



Autofagia: reciclaje, sobrevida y defensa

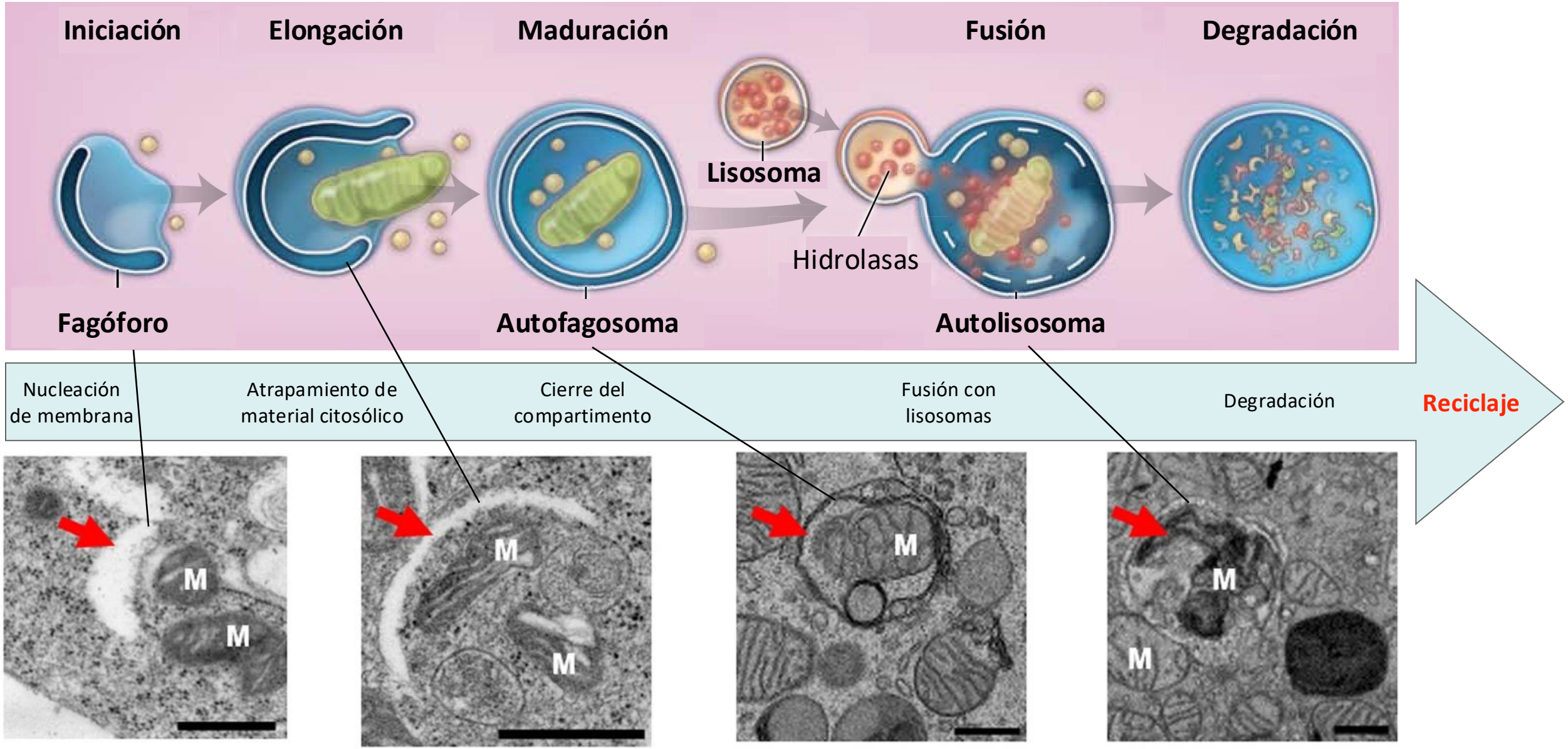


- Respuesta mayor al estrés.
- Mantiene el metabolismo en períodos de ayuno.
- Elimina contenidos dañinos:
  - Agregados proteicos tóxicos.
  - Organelos dañados.
  - Patógenos intracelulares.
- Homeostasis celular.
- Adaptación al estrés.
- Mecanismo de sobrevida a la inanición.
- Disfunciones en enfermedades crónicas (infección, neurodegeneración y cáncer).

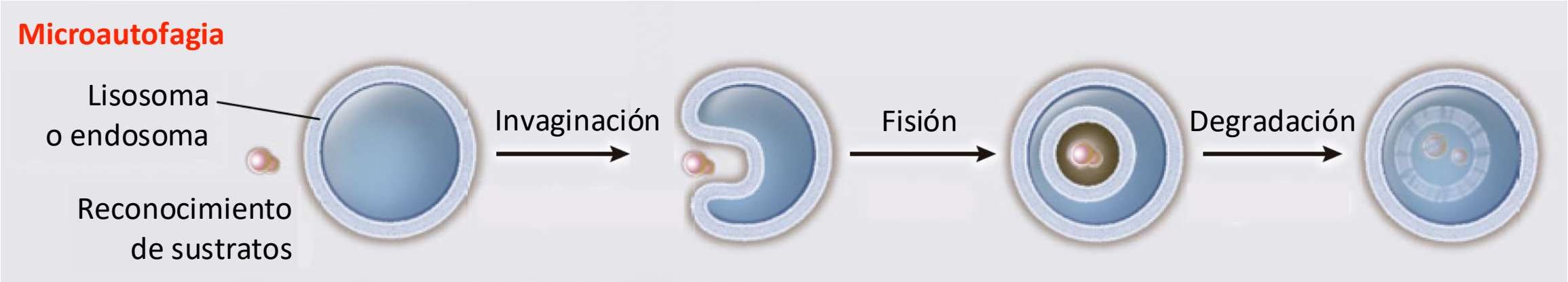
- Degradación de material celular (proteínas y organelos) o exógeno (patógenos) secuestrados en autofagosomas.
- Los autofagosomas atrapan proteínas, organelos y patógenos y se fusionan con lisosomas.
- Los productos de degradación se reutilizan como precursores para la biosíntesis de moléculas celulares.

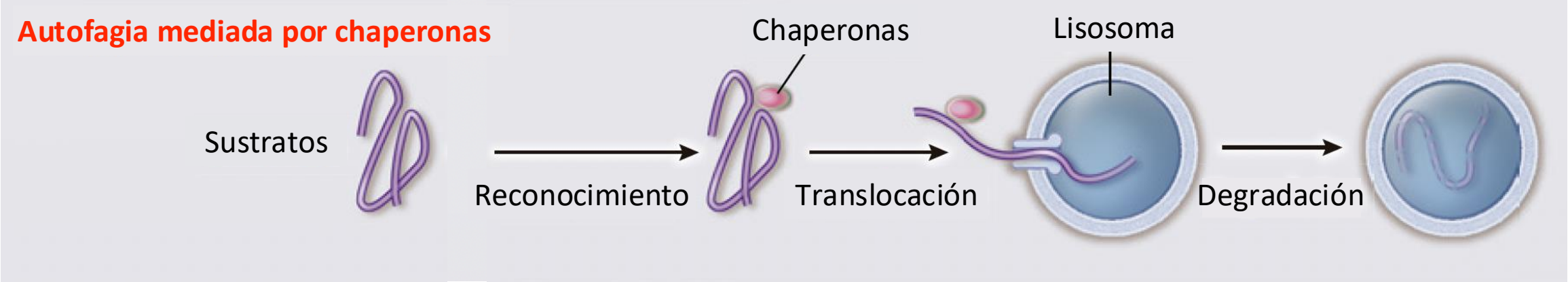
- **Ayuno intermitente estimula autofagia**
- **Obesidad o sobrealimentación inhiben la autofagia**
- **Envejecimiento inhibe la autofagia**

Tipos de autofagia: Macroautofagia



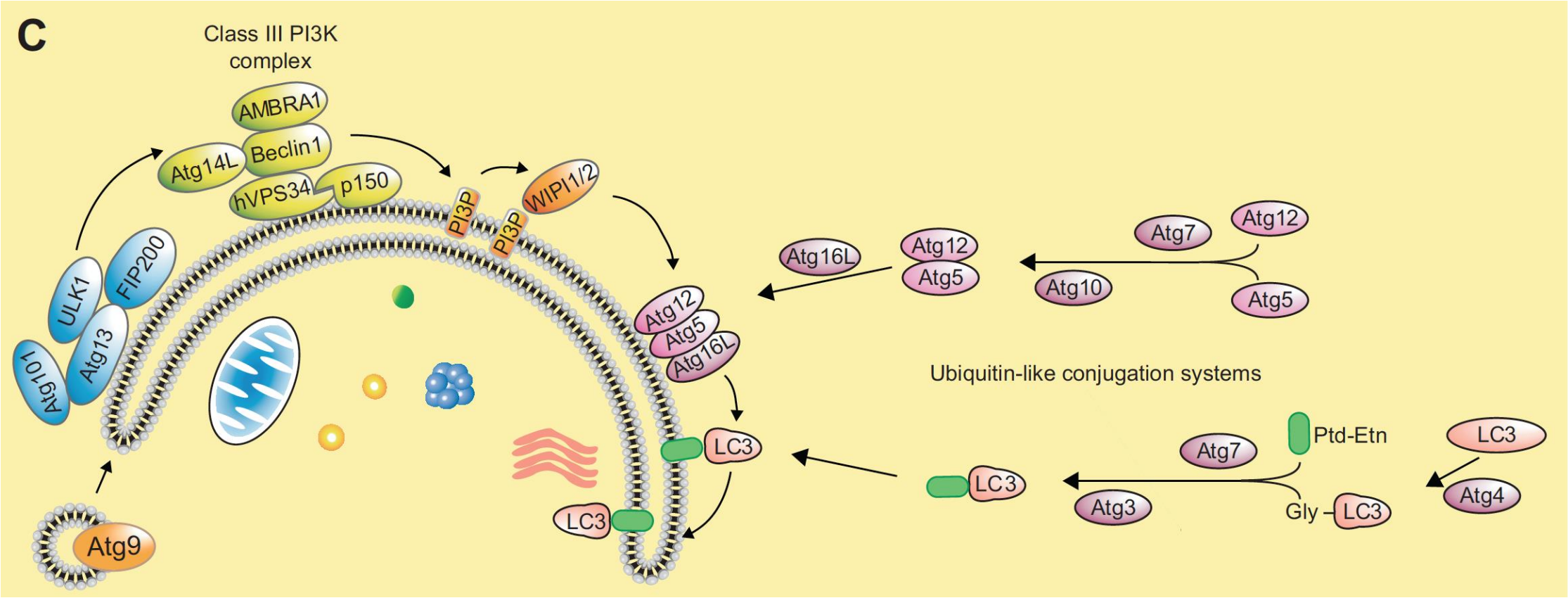
Tipos de autofagia: Microautofagia y autofagia mediada por chaperonas





Biogénesis de autofagosomas

Proteínas ATG en el proceso de biogénesis de autofagosomas



Biogénesis de autofagosomas

Proteínas de autofagosomas (ATG)

Alrededor de 20 participan en la maquinaria de biogénesis de autofagosomas

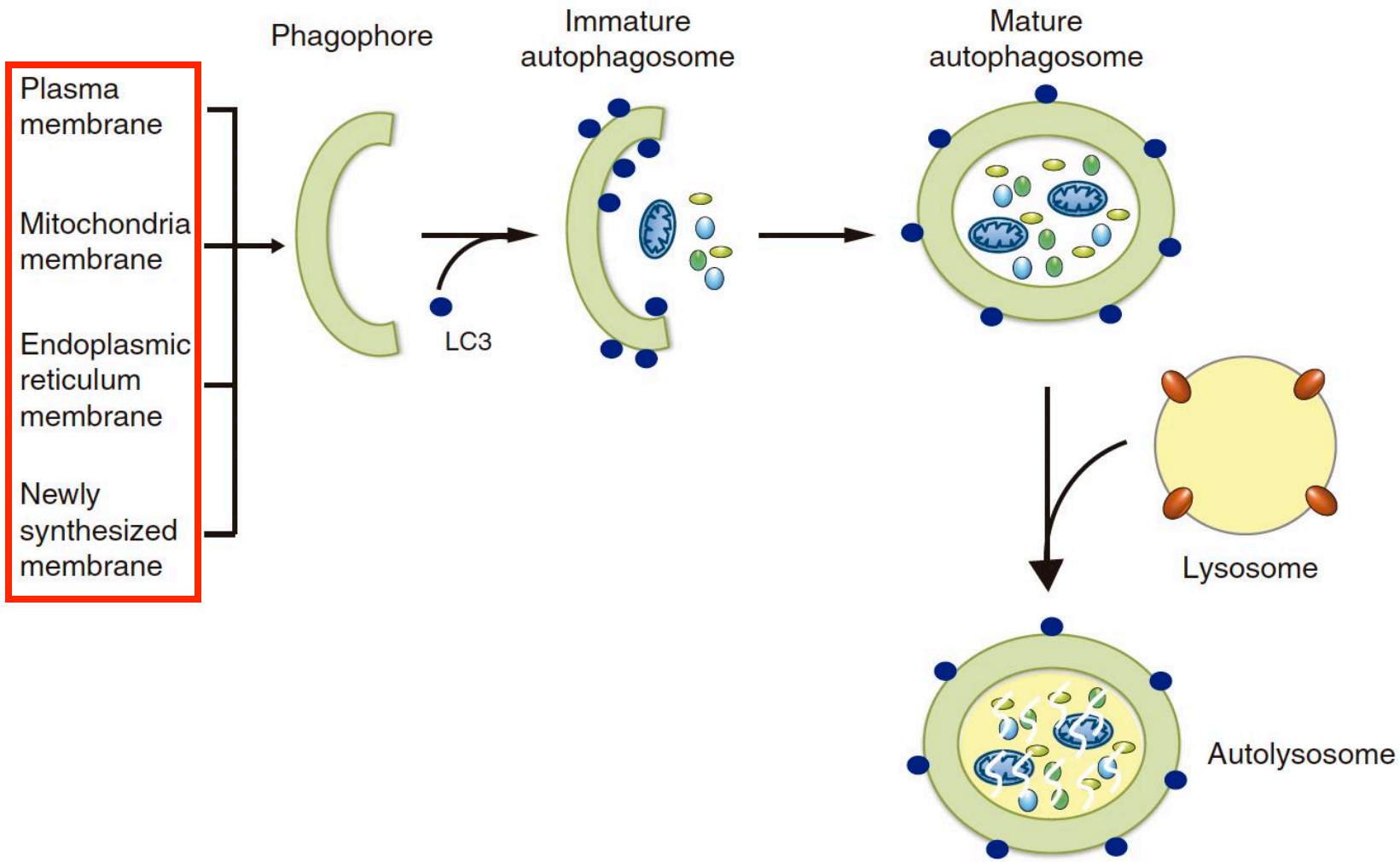
Se agrupan en 6 complejos proteicos

Complex	Yeast	Human	Complex role
Atg1/ULK1 complex	Atg1	ULK1/2	Atg1, which is a Ser/Thr kinase, forms an autophagy-specific complex with Atg13, Atg17, Atg31, and Atg29. Atg17, Atg31, and Atg29 form a stable 2:2:2 complex regardless of cellular nutrient status and serve as a scaffold that is important for protein localization to the PAS.
	Atg13	ATG13	
	Atg17	FIP200	
	Atg29		
	Atg31		
		ATG101	
Class III PI 3-kinase complex	Vps34	VPS34	The class III PI 3-kinase complex is responsible for the production of PI 3-phosphate (PI3P) at the PAS. Atg14 specifically targets the complex to the PAS.
	Vps15	VPS15	
	Vps30/Atg6	Beclin 1	
	Atg14	ATG14L/BARKOR	
Atg2–Atg18 complex	Atg2	ATG2	Atg18 is a PI3P sensor that forms a complex with Atg2 and Atg9.
	Atg18	WIPI1–4	
Atg12 conjugation	Atg12	ATG12	Atg7 (E1-like enzyme) and Atg10 (E2-like enzyme) conjugate Atg12 to Atg5. Atg16 is a homodimer that forms a complex with Atg5 and Atg12 and is important for Atg8–phosphatidylethanolamine (PE) conjugation.
	Atg7	ATG7	
	Atg10	ATG10	
	Atg5	ATG5	
	Atg16	ATG16L1/2	
Atg8 conjugation	Atg8	LC3A/B/C GABARAP GABARAPL1/2/3	Atg4 is a hydrolase that activates Atg8/LC3. Atg8 is conjugated to PE through Atg7 (E1-like enzyme), the Atg12–Atg5–Atg16 complex, and Atg3 (E2-like enzyme).
	Atg4	ATG4A-D	
	Atg7	ATG7	
	Atg3	ATG3	
Atg9 associated	Atg9	ATG9	Integral membrane protein involved in autophagy. Atg23 is a peripheral membrane protein required for Atg9 trafficking from the Golgi. Atg27 is a type I integral membrane protein required for Atg9 trafficking from the Golgi.
	Atg23		
	Atg27		

Biogénesis del autofagosoma: origen de las membranas

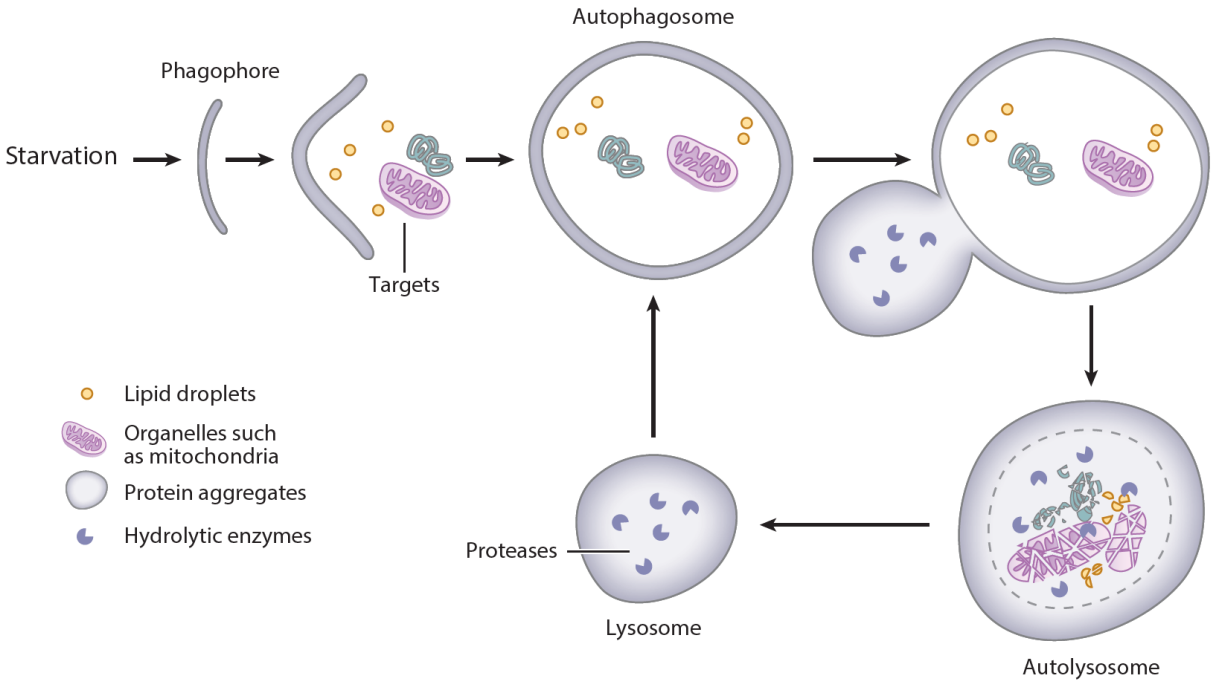
Diversos organelos pueden contribuir a la membrana inicial que forma el fagóforo

El retículo endoplásmico es una de las fuentes principales



Autofagia masiva y selectiva

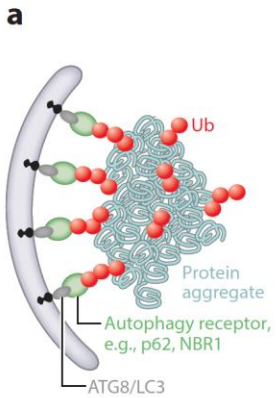
Autofagia Masiva



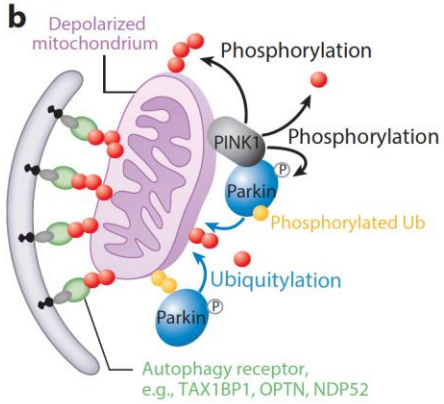
Autofagia Selectiva

1) Receptores de autofagia citosólicos reconocen proteínas, organelos y patógenos ubiquitinados

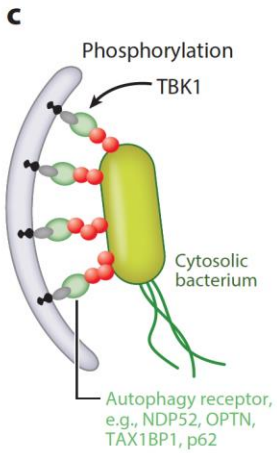
Agregofagia



Mitofagia

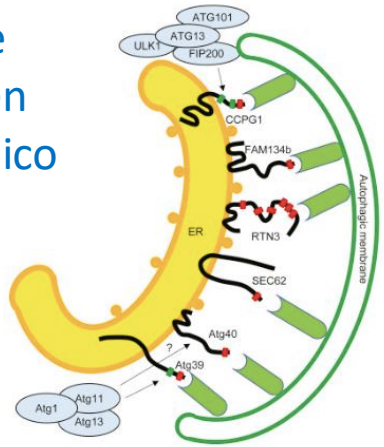


Xenofagia

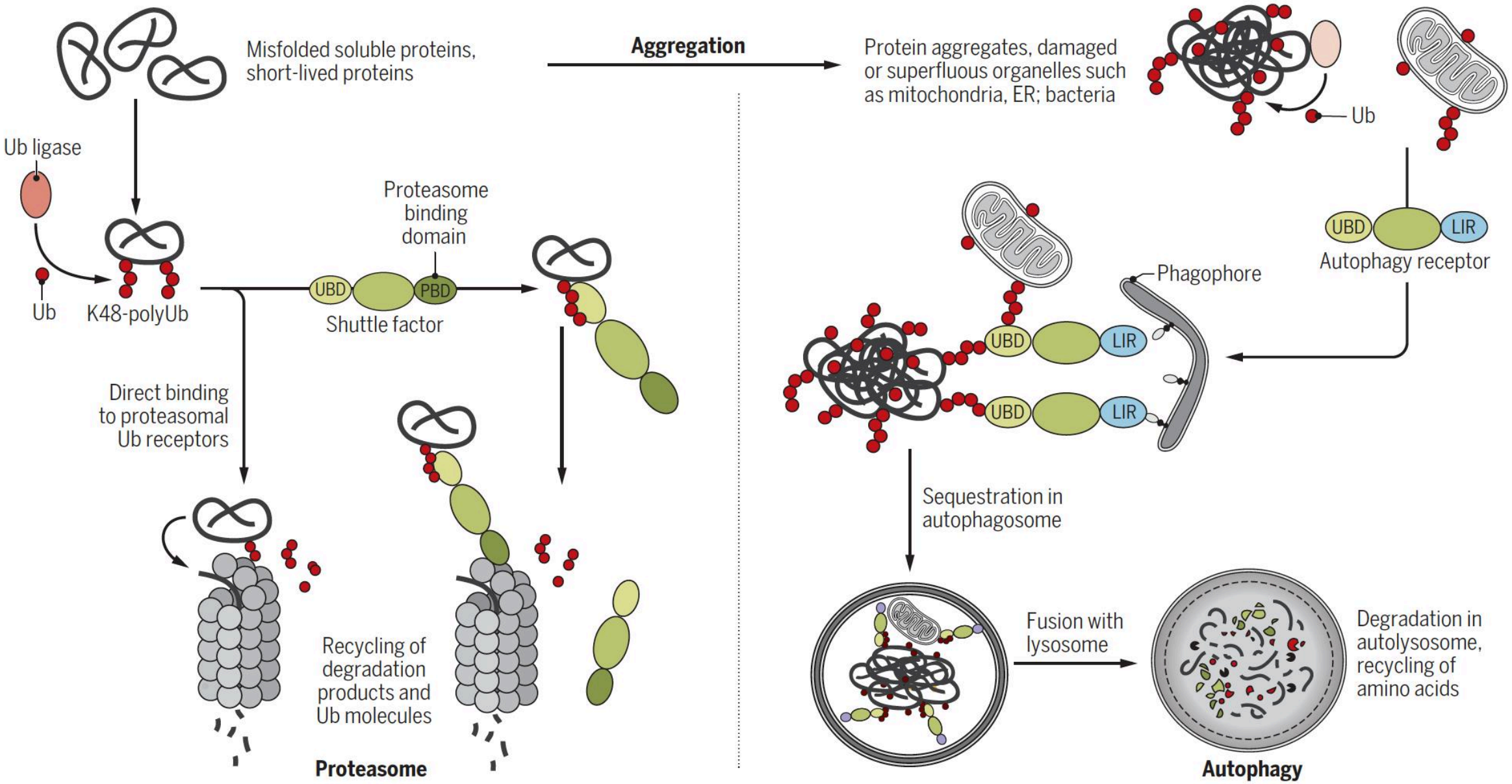


2) Receptores de transmembrana en retículo endoplásmico unen LC3 en autofagosomas

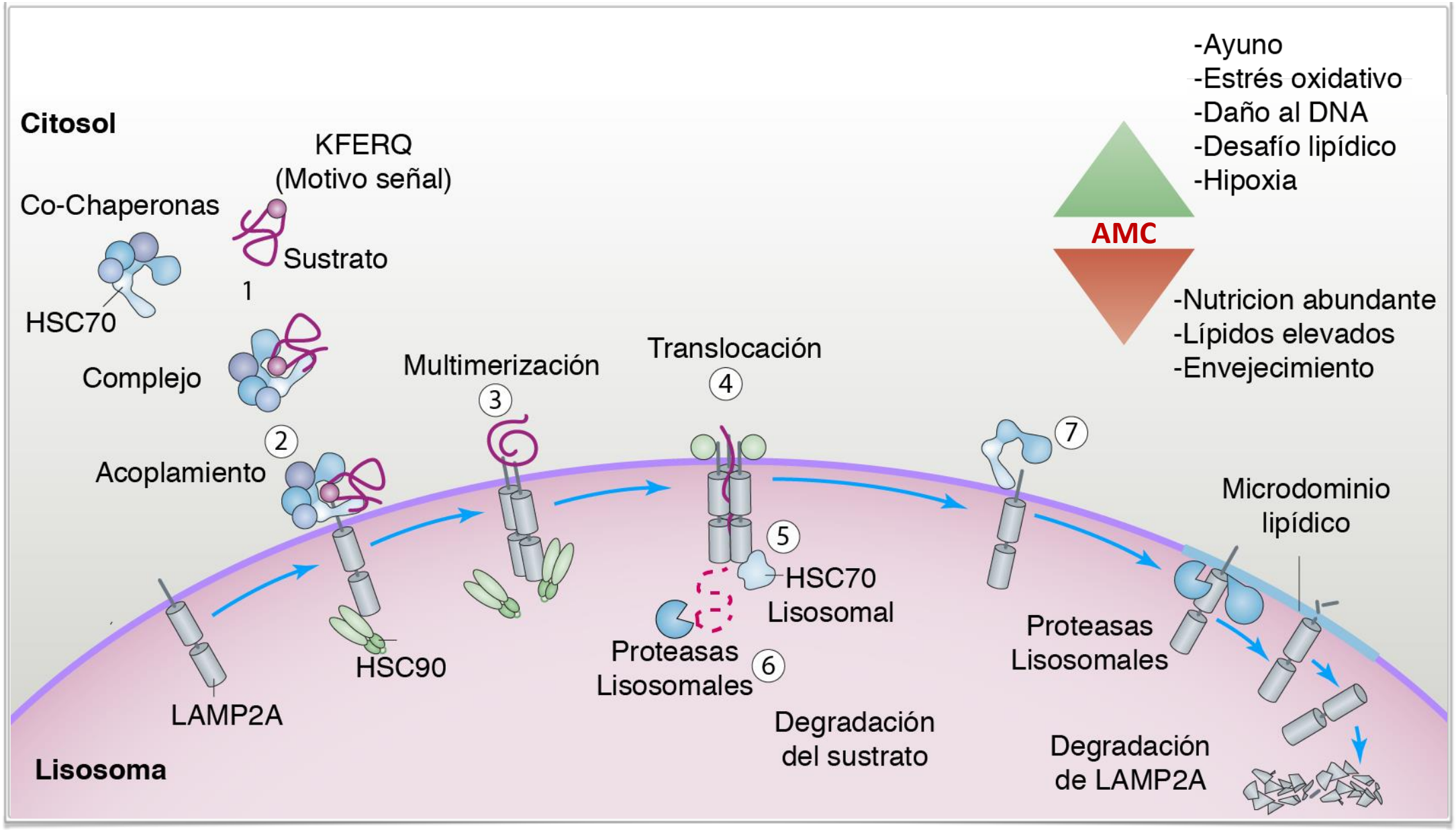
Reticulofagia



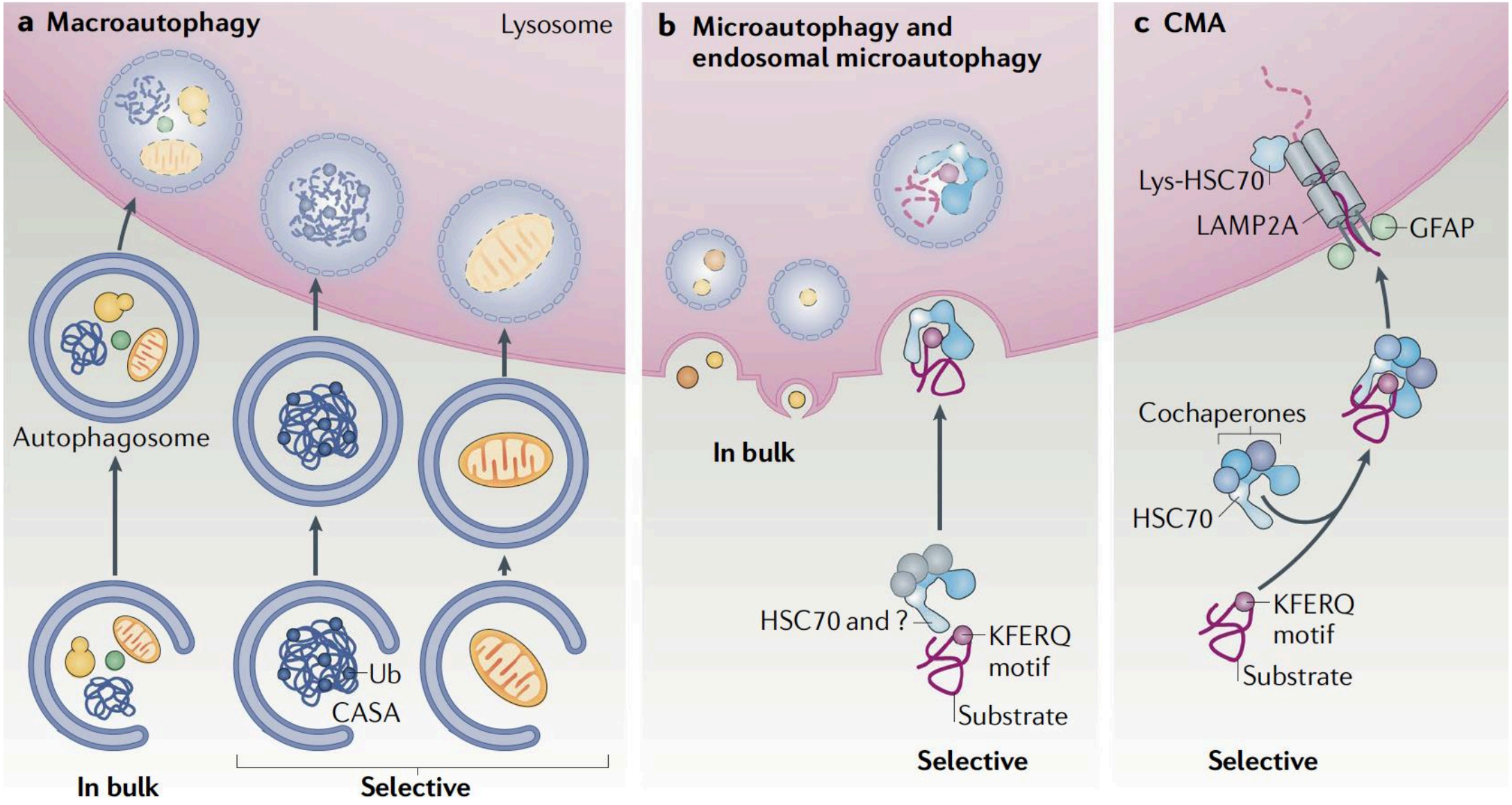
Sistema ubiquitina/proteasoma versus autofagia



Autofagia mediada por chaperonas



Autofagia mediada por chaperonas



Más de 40 genes ATG codifican proteínas involucradas en las diversas vías de autofagia, tanto masivas como selectivas

Funciones de la autofagia

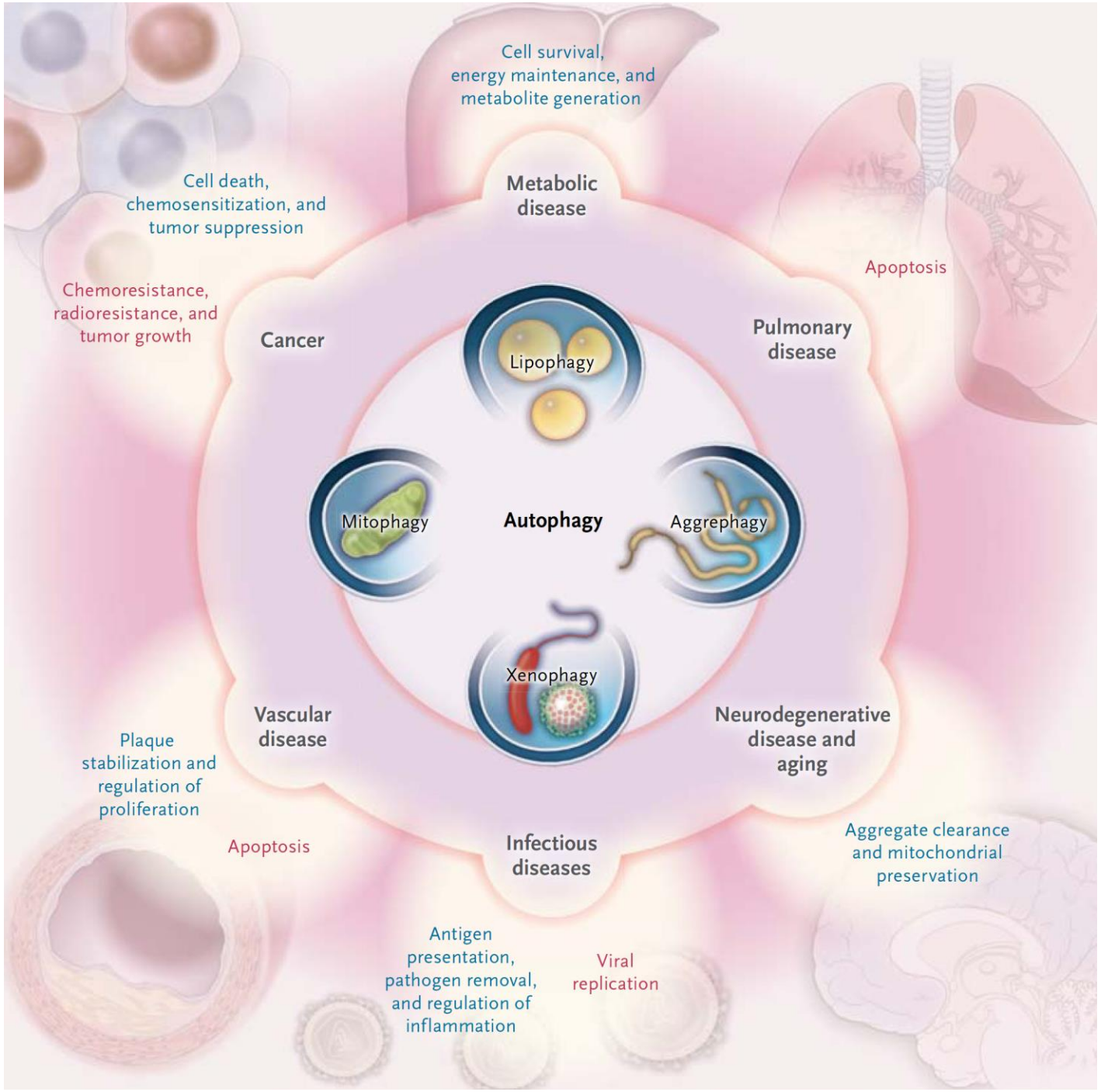
Table 1. Physiological Functions of Autophagy in Mammals.*

Function	Mechanism
Adaptive metabolic response to starvation and exercise	Enhanced degradation to maintain protein synthesis and energy production
Development	
Embryonic development	Degradation of maternal proteins to produce zygotic proteins, degradation of paternal mitochondria
Differentiation and tissue development	Adipose tissues, lymphocytes, erythrocytes, heart, intestine, and other organs (e.g., testis and ovary)
Homeostasis†	
Basal turnover	Continuous bulk degradation of cytoplasmic contents (e.g., proteins, nucleic acids, and glycogen)
Protein quality control	Active degradation of misfolded proteins or condensates and aggregates
Organellar homeostasis	Elimination of excess, damaged, harmful, or ruptured organelles
Lipid homeostasis	Degradation of membrane lipids and lipid droplets (lipophagy) and regulation of PPARα
Redox homeostasis	Degradation of damaged mitochondria (mitophagy)
Nrf2 regulation	Degradation of the KEAP1-binding protein SQSTM1/p62
Iron homeostasis	Degradation of ferritin
Immunity or inflammation	
Control of pathogen replication	Selective elimination of pathogens (xenophagy)
Regulation of innate immunity	Regulation of inflammasome activation, innate immune signaling, and cytokine secretion
Regulation of B- and T-cell responses	Lymphocyte differentiation and antigen presentation
Other functions	
Antiaging	Homeostatic roles of autophagy
Stem-cell maintenance	Homeostatic roles of autophagy
Genomic integrity	Homeostatic roles of autophagy
Conventional secretion	Enhancement of regulated or constitutive secretion
Unconventional secretion	Fusion of autophagosomes (or related structures) with the plasma membrane
Cell death	Various mechanisms, including autosis

Autofagia y enfermedad

Enfermedades

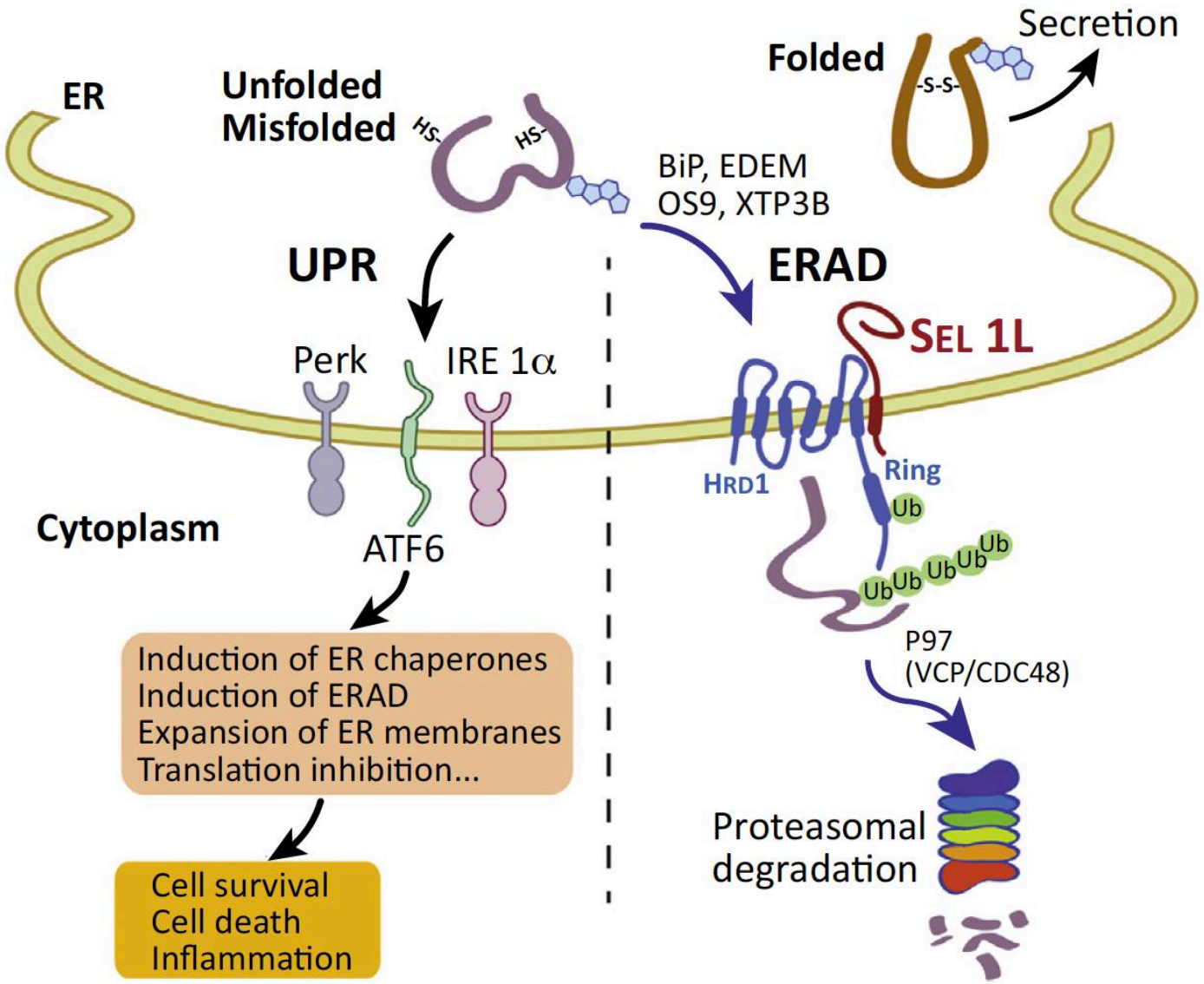
- Neurodegenerativas
- Cardiovasculares
- Diabetes tipo II
- Cáncer



Control de calidad en retículo endoplásmico

UPR:
Unfolded Protein Response

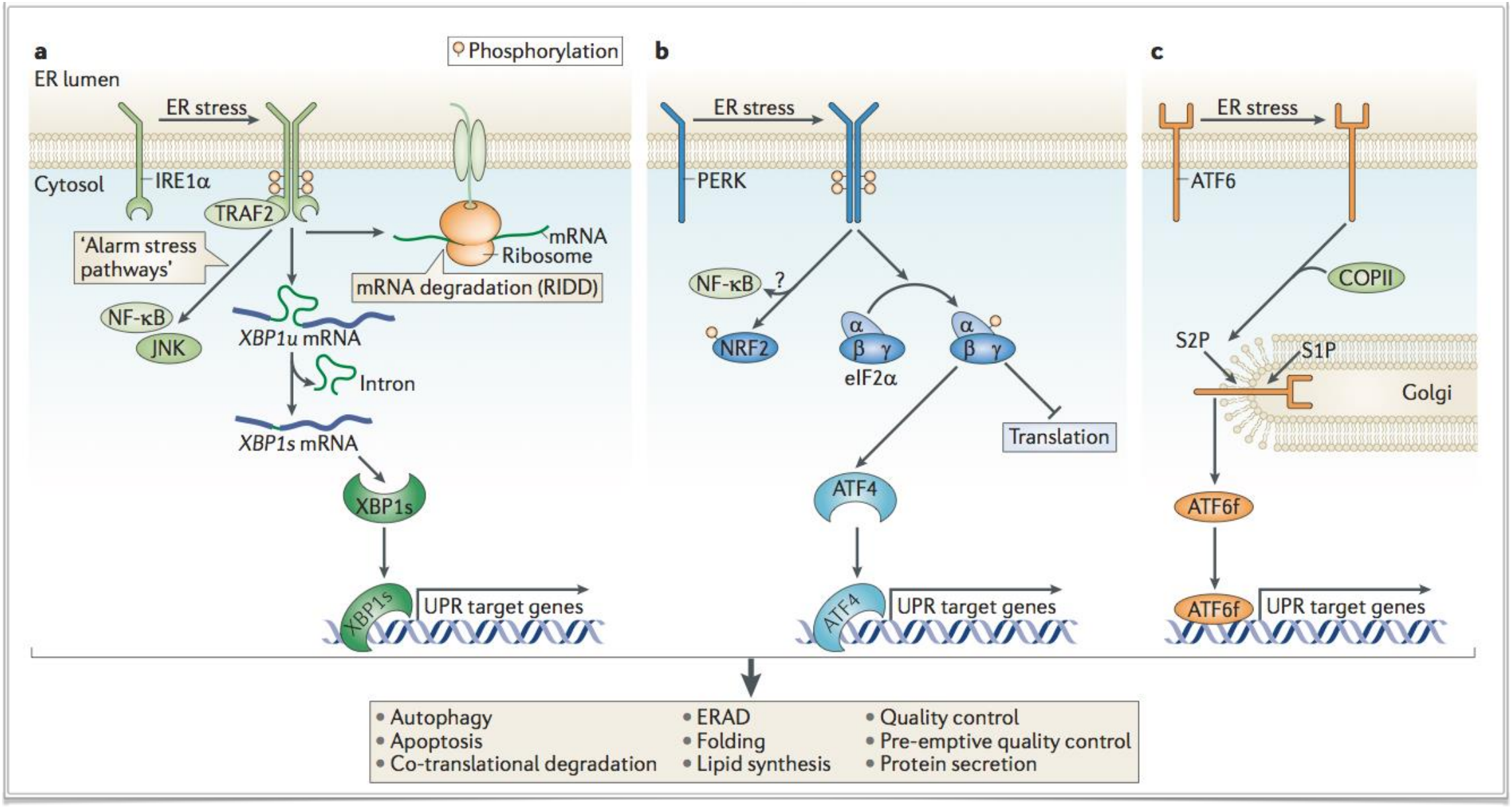
Respuesta a proteínas no plegadas



ERAD:
Endoplasmic Reticulum Associated Degradation

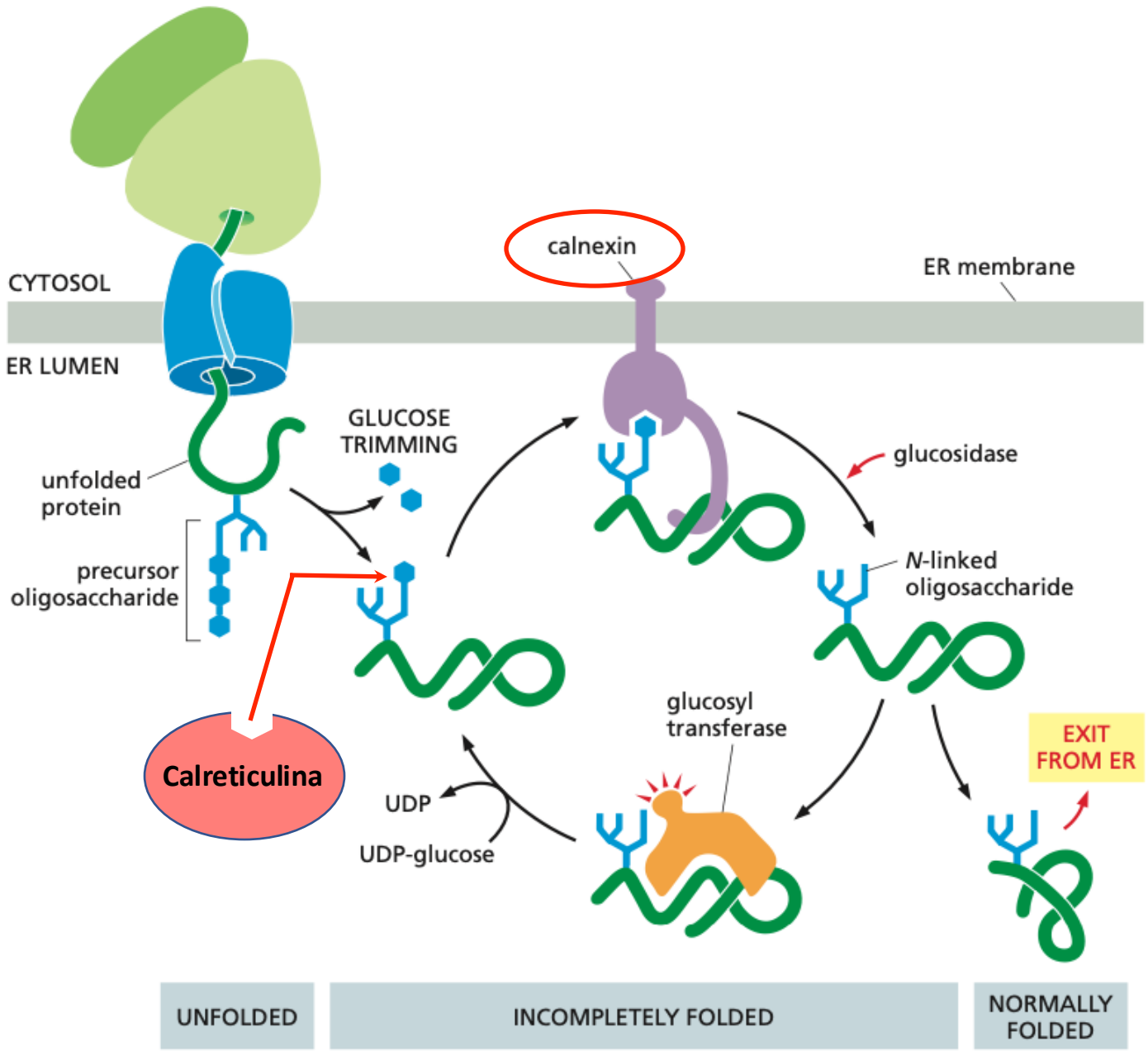
Degradación asociada al retículo endoplásmico

Control de calidad en retículo endoplásmico: UPR

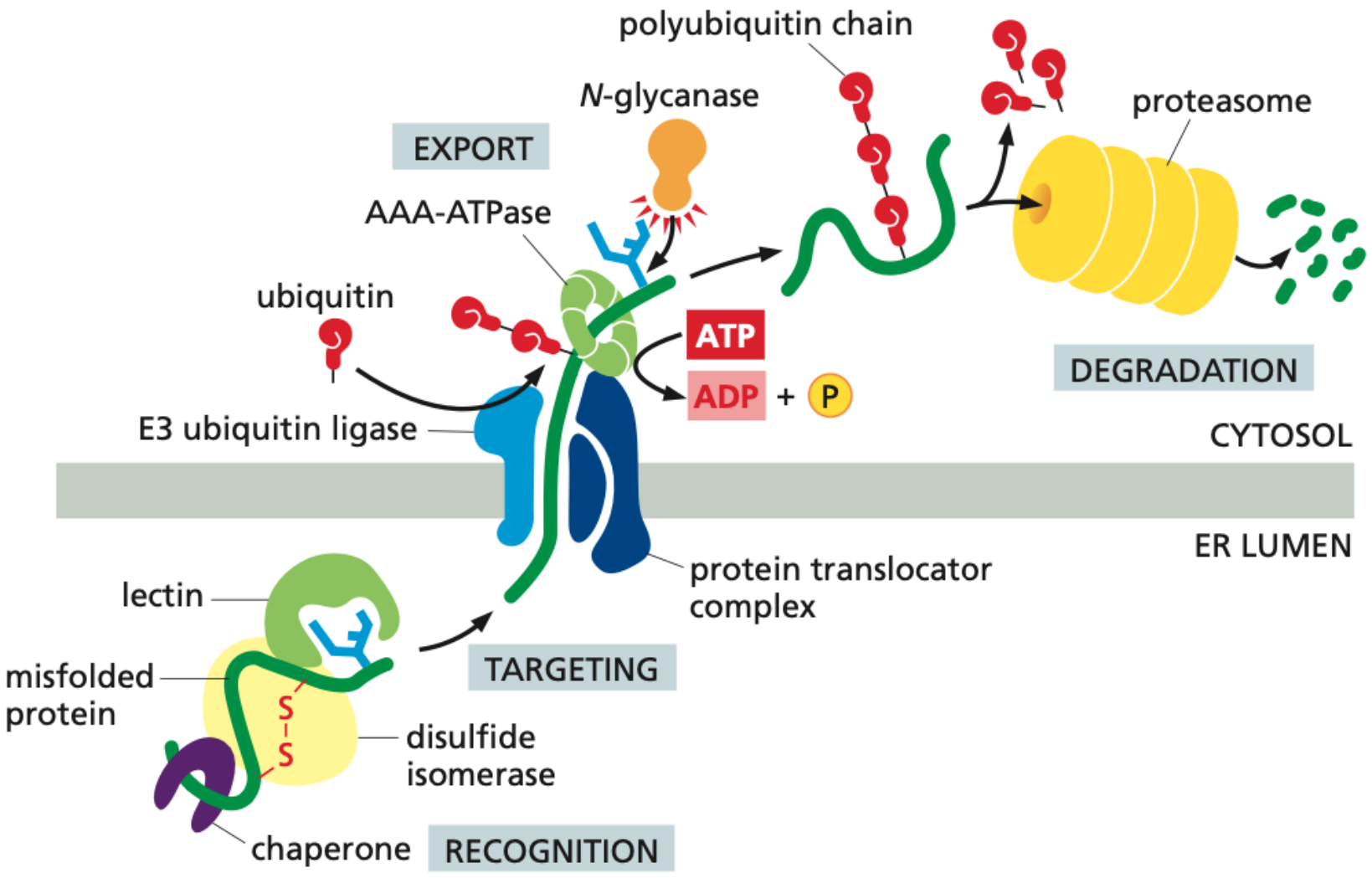


Control de calidad mediado por N-glicosilación

Ciclo de deglicosilación/glicosilación asociado a interacciones con **Calnexina** o **Calreticulina** define el tiempo para un plegamiento correcto



Control de calidad en retículo endoplásmico: ERAD

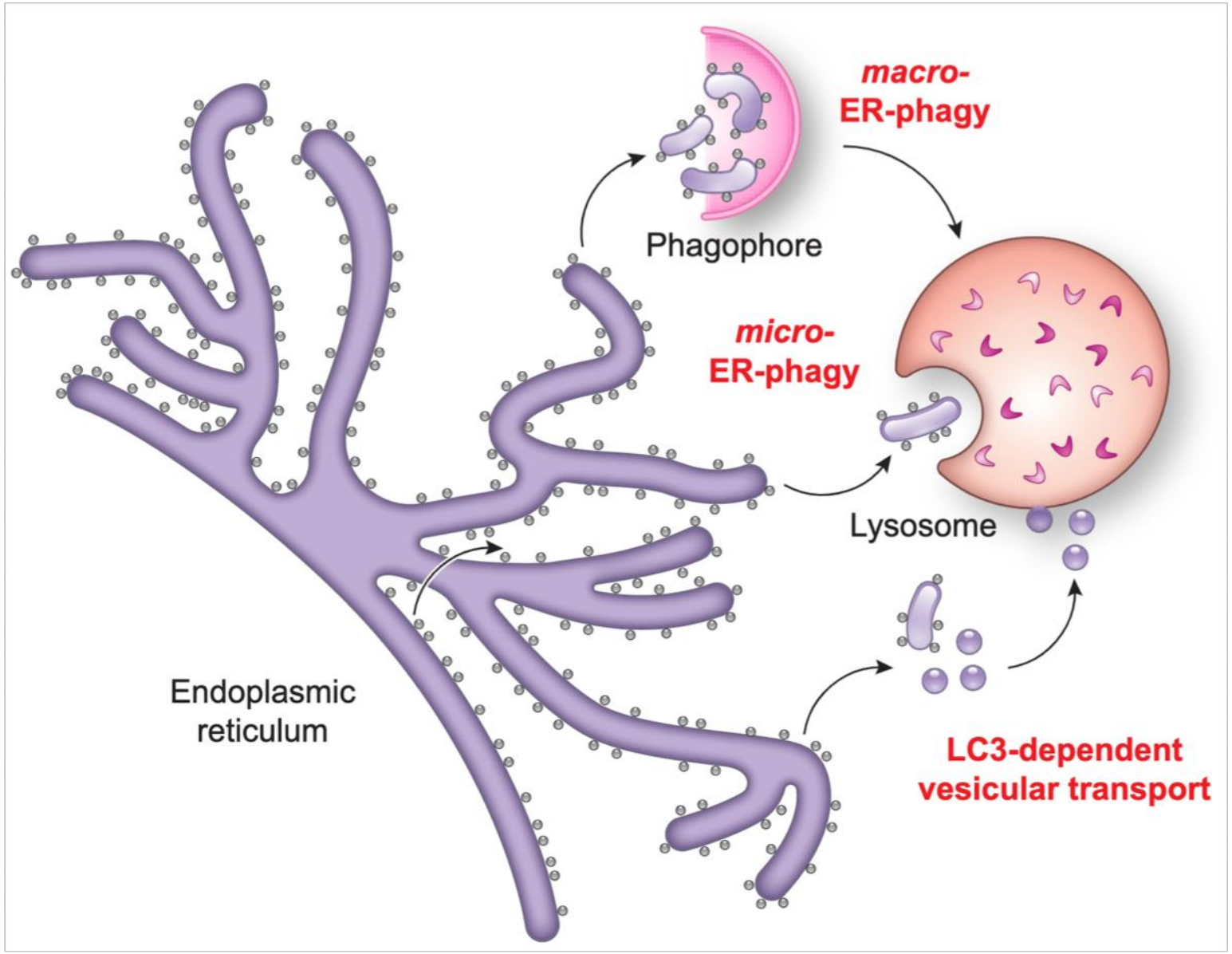


ERAD: Degradación asociada al retículo endoplásmico ocurre en el citosol por el proteasoma

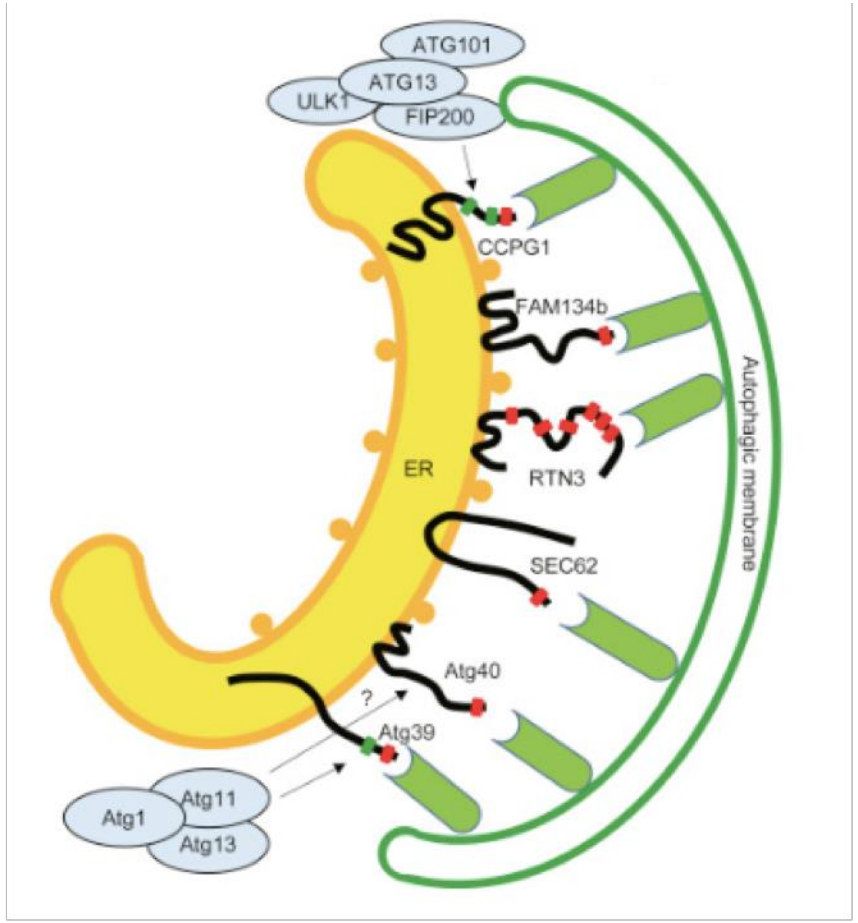
Problemas en el plegamiento

- Empieza a perder manosas
- Reconocimiento por otras lectinas
- Acoplamiento al complejo retrotranslocón
- Procesamiento en citosol (Ubiquitinación, deglicosilasión)
- Degradación por el proteasoma

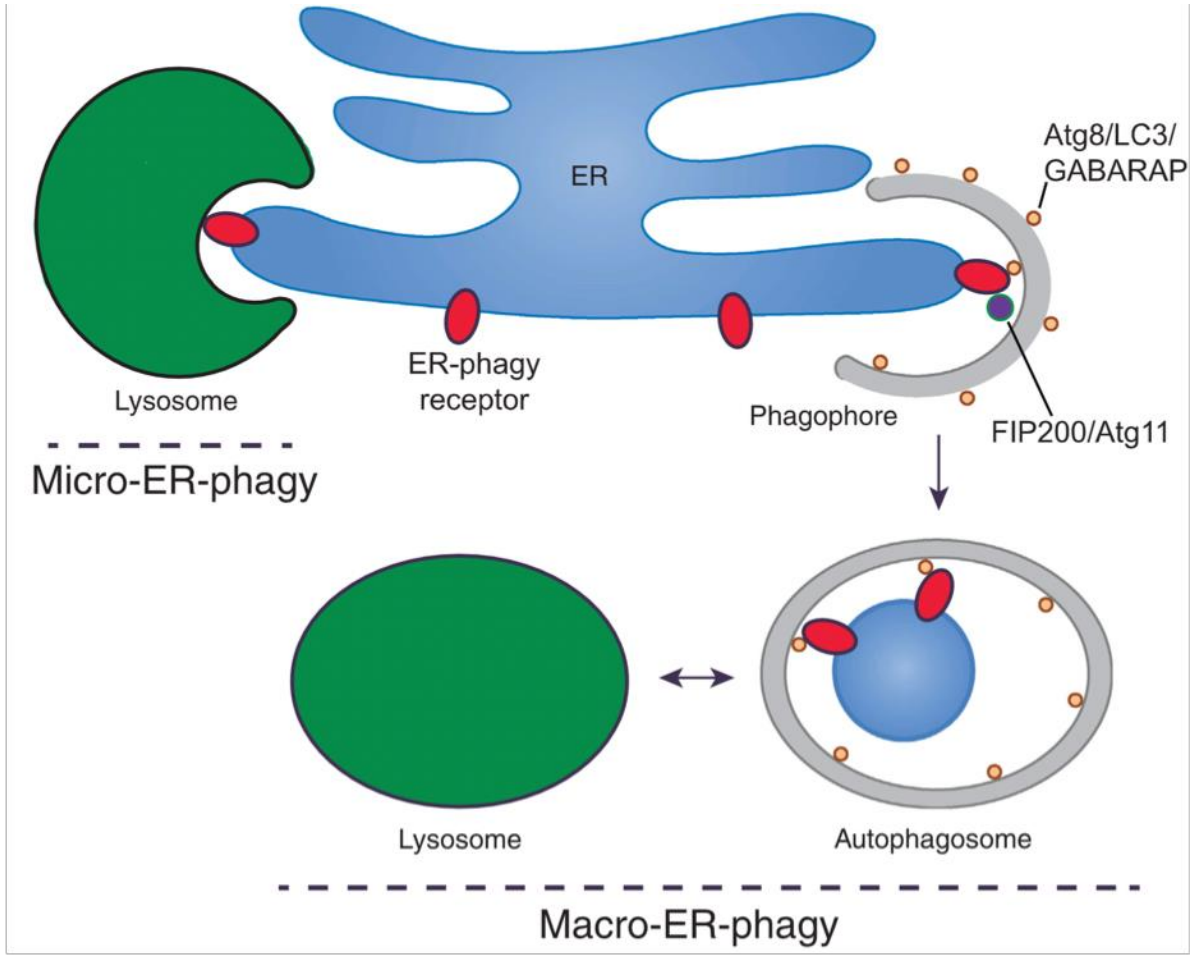
Vías de ER-Fagia



Reticulofagia

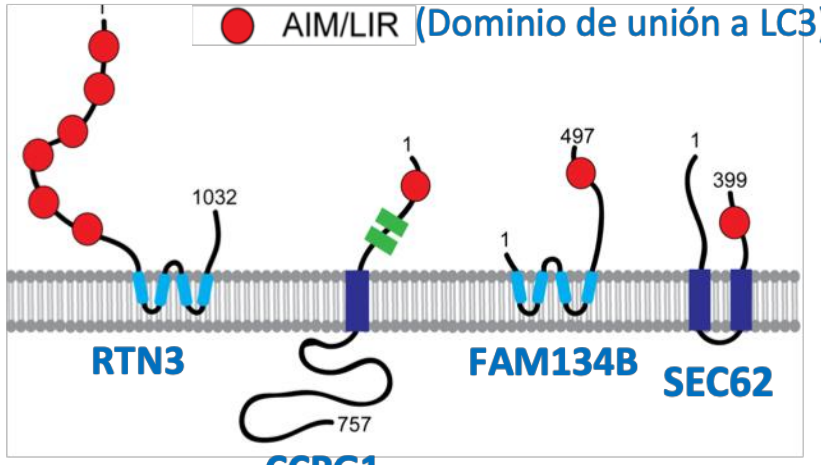


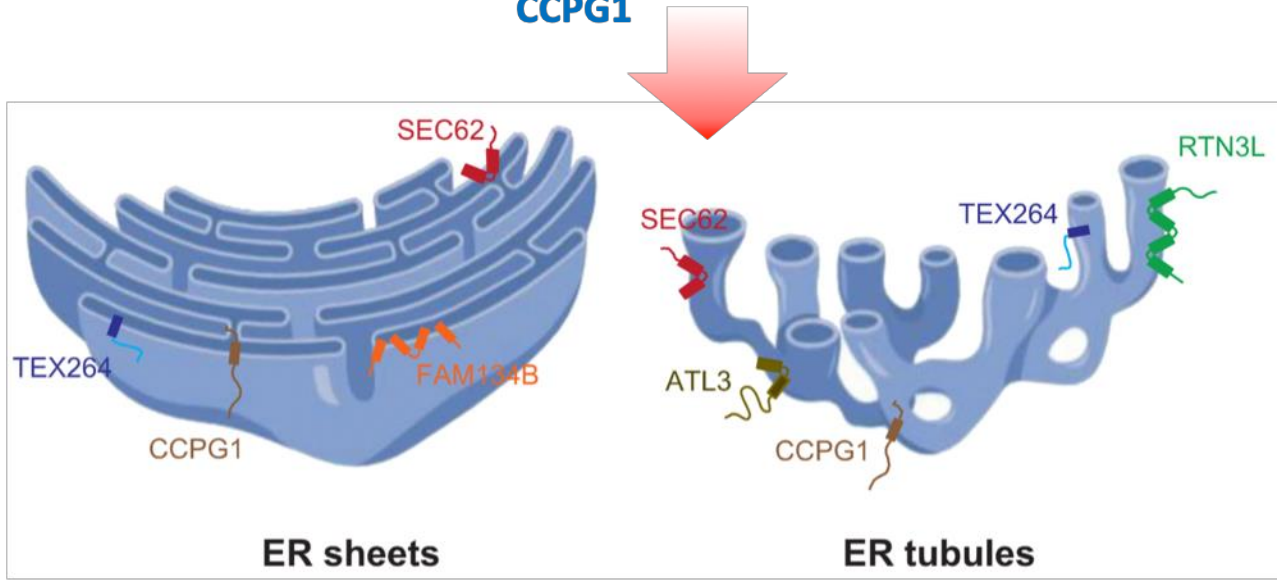
Vías de ER-Fagia: Micro versus Macro



Receptores de autofagia en retículo endoplásmico definen empaquetamiento en un fagóforo (macroautofagia) o envolvimiento directo por lisosomas (microautofagia)

Receptores de ER-Fagia



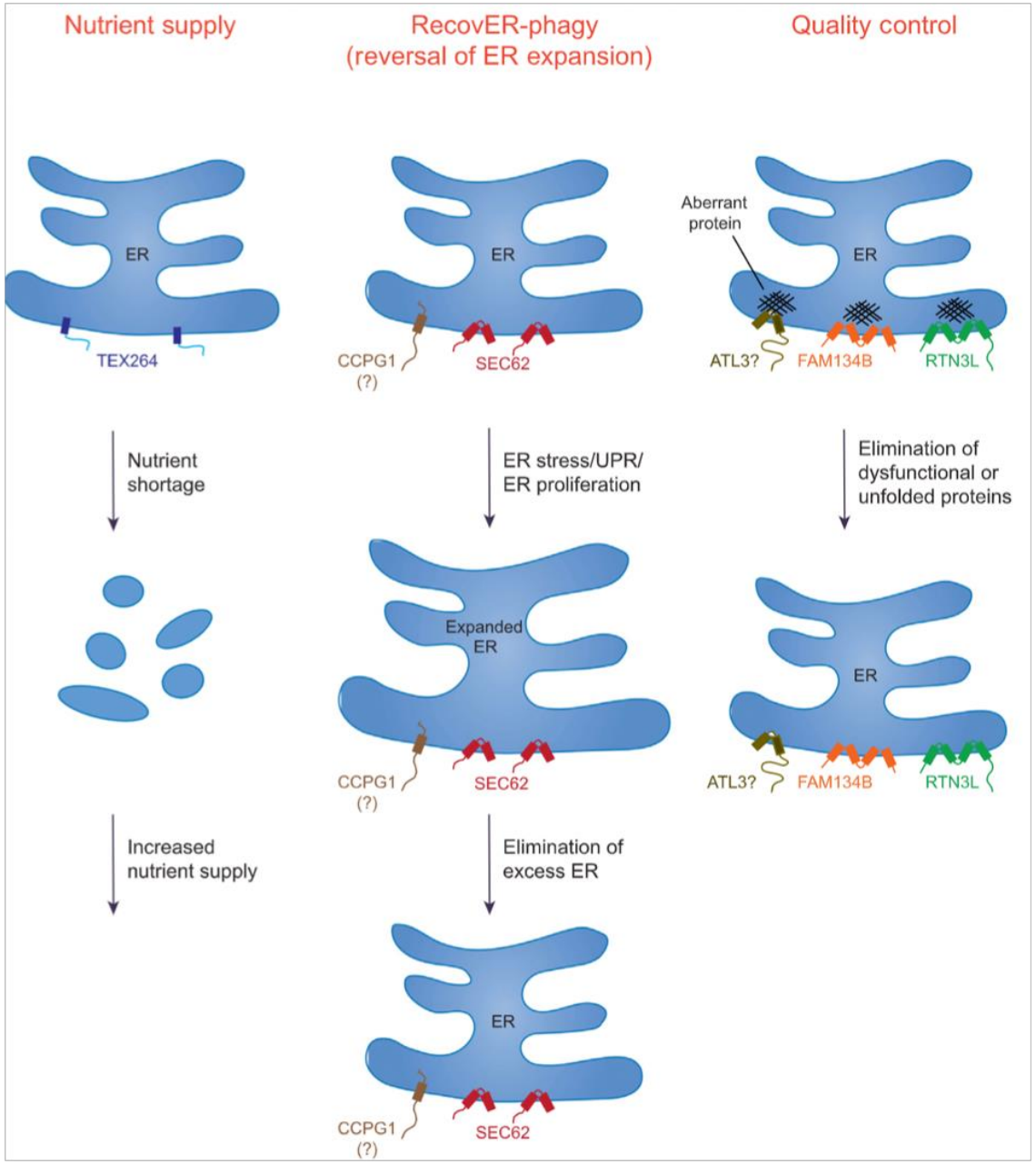


Regiones de autofagia en retículo endoplásmico

Funciones de la autofagia del retículo endoplásmico

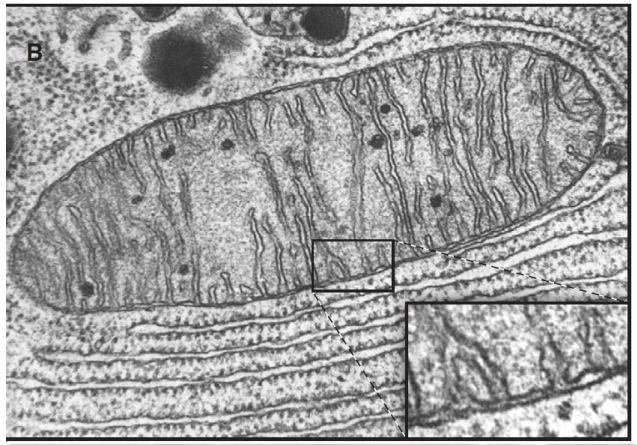
Rutas y (receptores) en ER-fagia

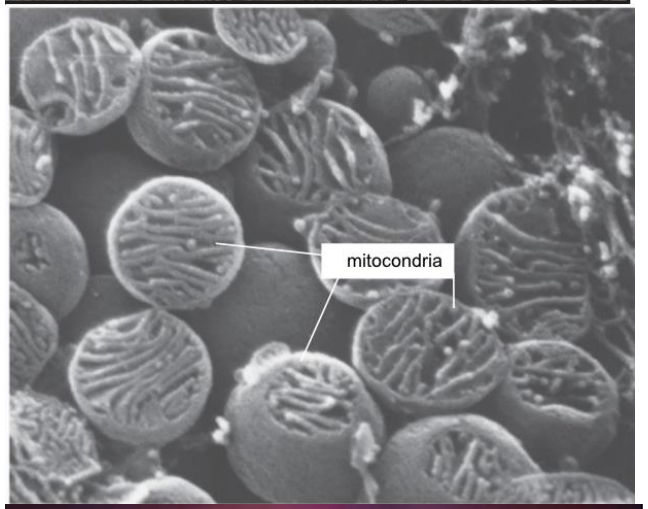
- Suministro de nutrientes (TEX264): Degradación de fragmentos del ER cuando disminuyen los aminoácidos
- ER-Fagia de recuperación o reversión de la expansión del ER que ocurre por UPR (SEC62 y CCPG1)
- Control de calidad (FAM134B, RTN3L)



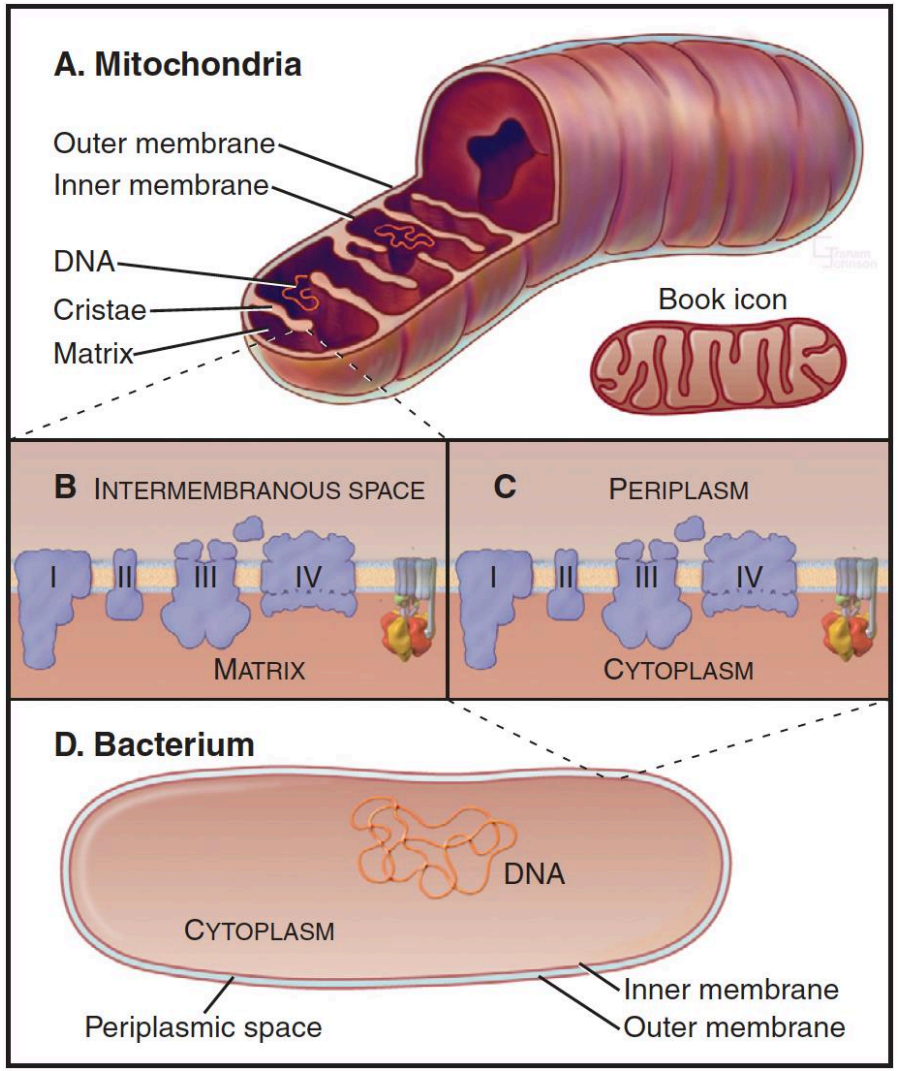
Mitocondrias

- Ocupan 20% del volumen citosólico
- Diámetro 0.1-0.5 micrones
- Largo: 0.5-1.0 micrones
- Consumen oxígeno en reacciones que generan ATP
- Responsables del metabolismo aeróbico





Tienen una membrana externa y una interna, al igual que las bacterias



Membranas externas e internas

- Tienen disintas propiedades y funciones
- Delimitan compartimentos separados en el organelo

Relaciones estructura-función mitocondrial

Membrana externa
- Porinas forman poros acuosos permeables a iones y pequeñas moléculas de hasta 5000 daltons
- Enzimas que modifican ácidos grasos
- Importadores de proteínas

Espacio intermembranas
- Mismo pH, composición iónica y solutos que el citosol

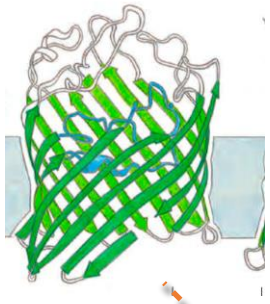
Membrana interna
- Altamente diferenciada
- Regiones con distinta composición y función

Membrana limitante interna
- Importadores de proteínas, ensamblaje de la cadena transportadora de electrones

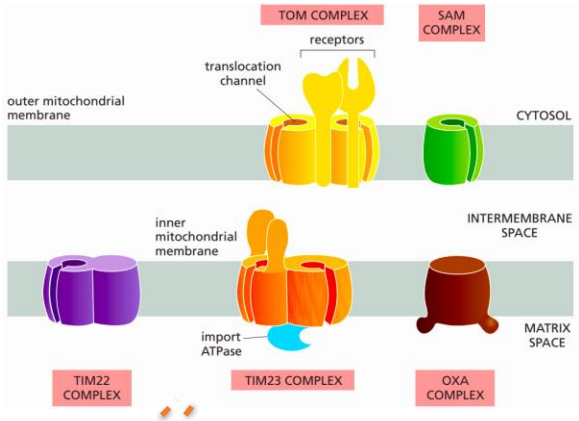
Membrana de las crestas
- ATP sintetasa que genera ATP
- Transportador de ADP/ATP
- Cadena transportadora de electrones
- Proteínas (75%); lípidos (25%)
- Aumenta la superficie para la fosforilación oxidativa (hasta 20 veces la superficie de la membrana plasmática en ciertas células)

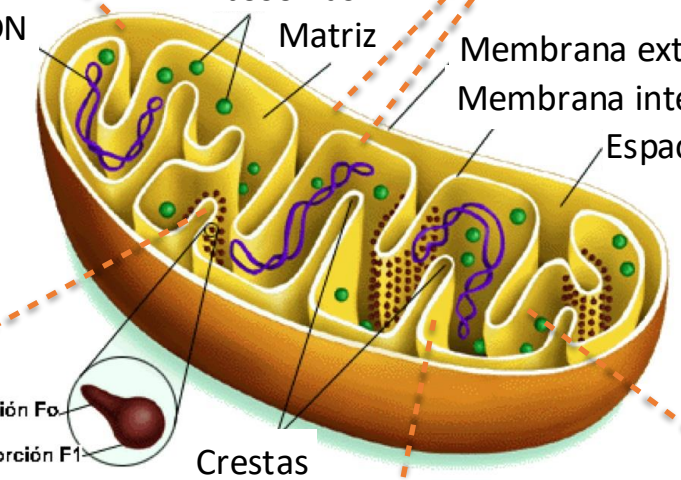
Matriz
- Transcripción y Replicación del DNA
- RNA mensajero, RNA de transferencia; RNA ribosomal
- Síntesis de proteínas
- Descarboxilación oxidativa, ciclo de Krebs

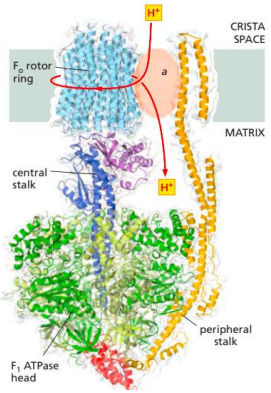
Porina



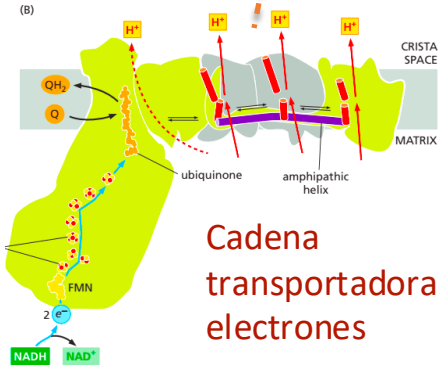
Importadores de proteínas en las membranas externas e internas





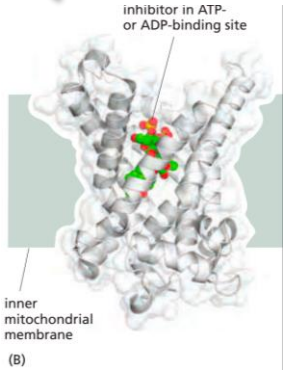


ATP sintetasa

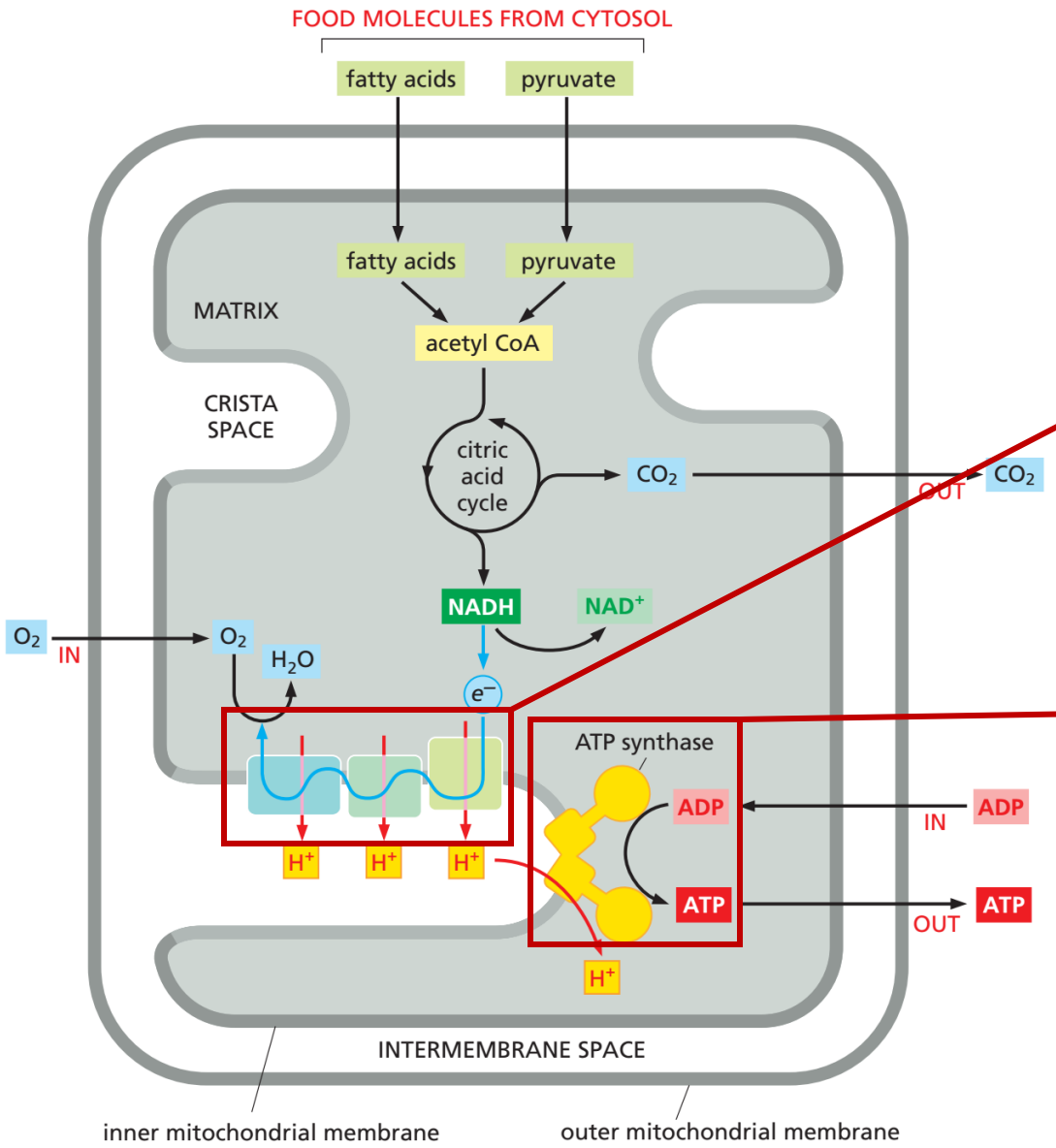


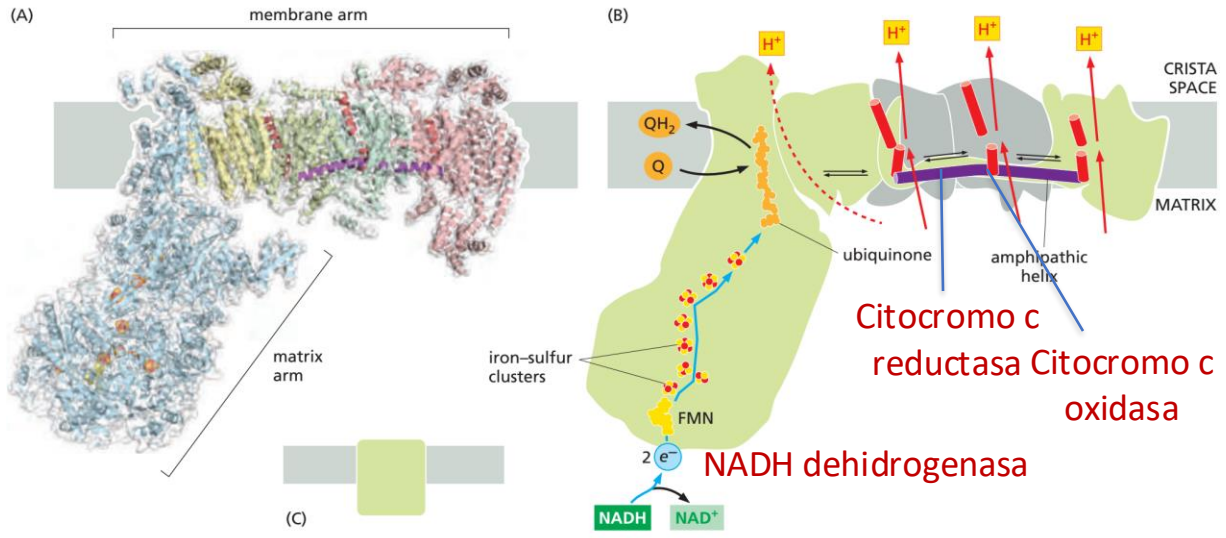
Cadena transportadora de electrones

Transportador ATP/ADP



Generación de ATP en la mitocondria



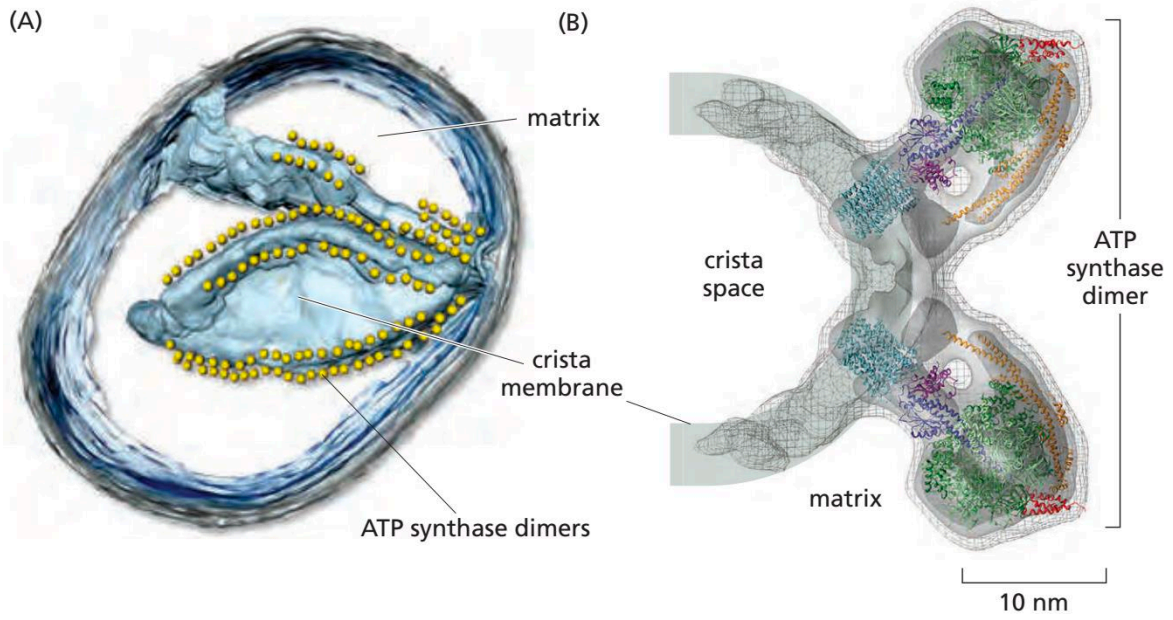


Citocromo c reductasa

Citocromo c oxidasa

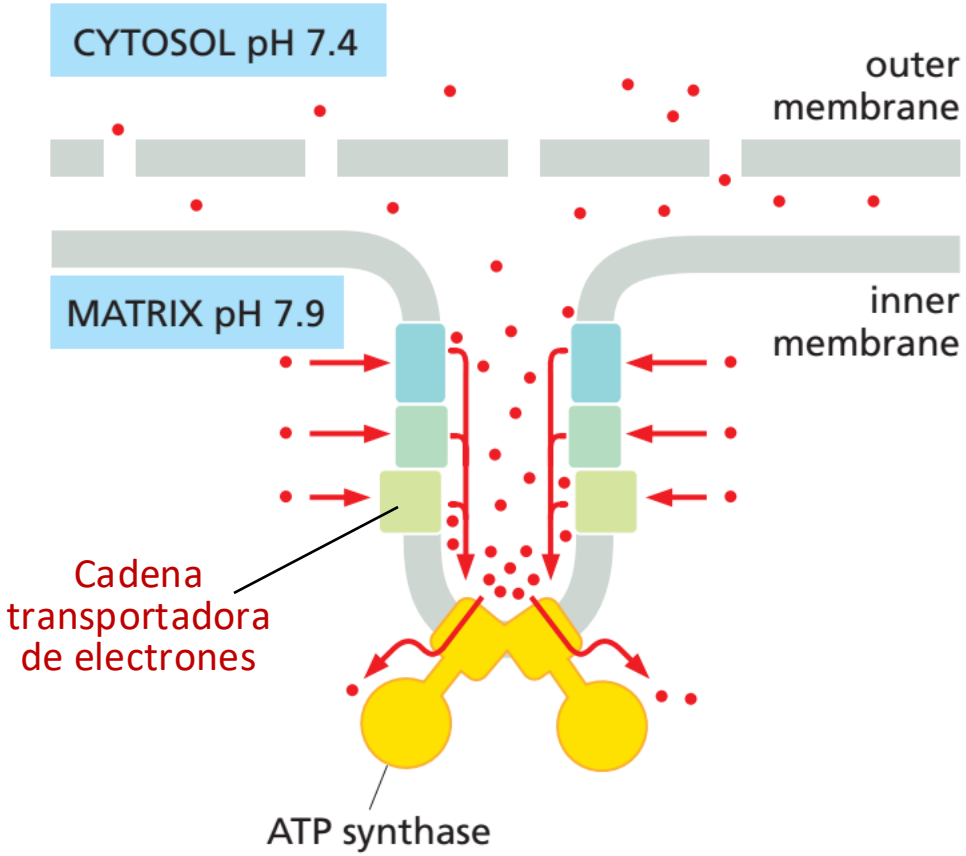
NADH dehidrogenasa

Cadena transportadora de electrones en las paredes de las crestas

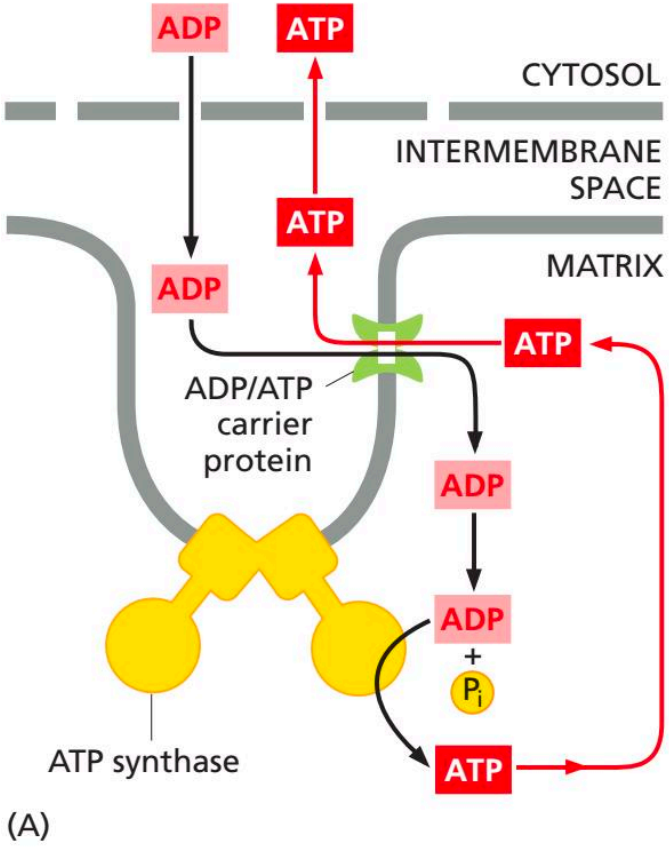


Dímeros de la ATP sintetasa (Bomba de protones) en el fondo de las crestas

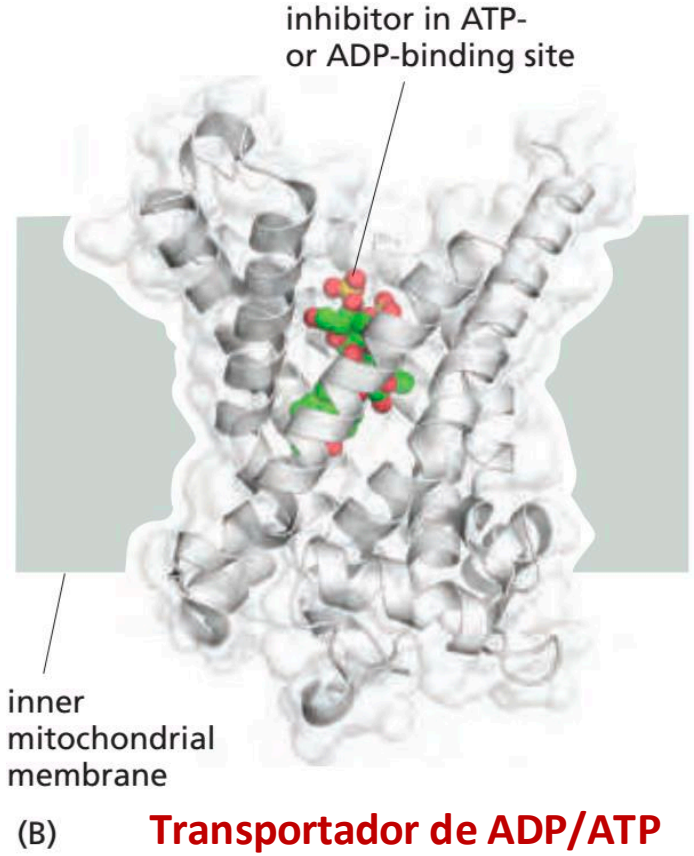
Proteínas en la generación y transporte de ATP en la mitocondria



El ATP se genera en el espacio interno (matriz) mitocondrial
Debe salir hacia el citosol



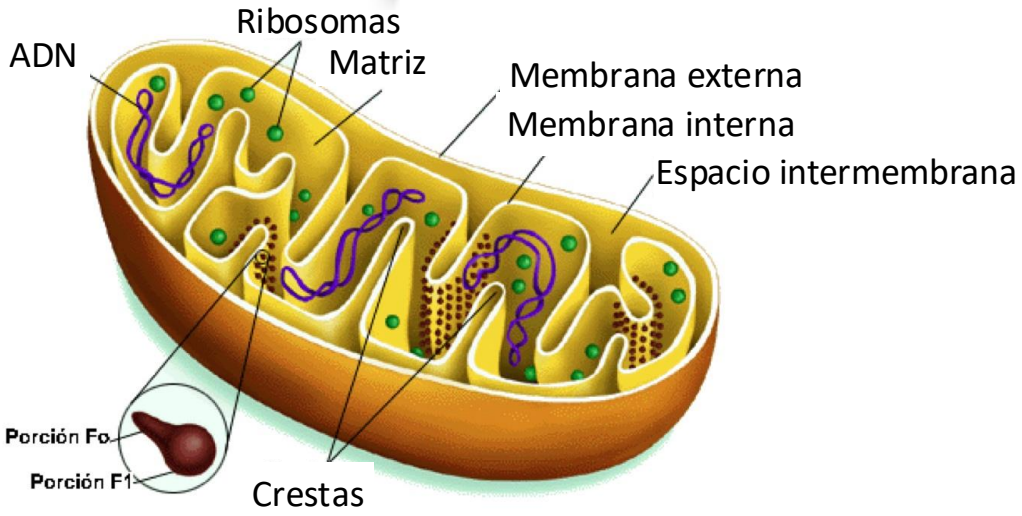
ATP sale y ADP entra por el mismo transportador en la membrana interna



Transportador de ADP/ATP

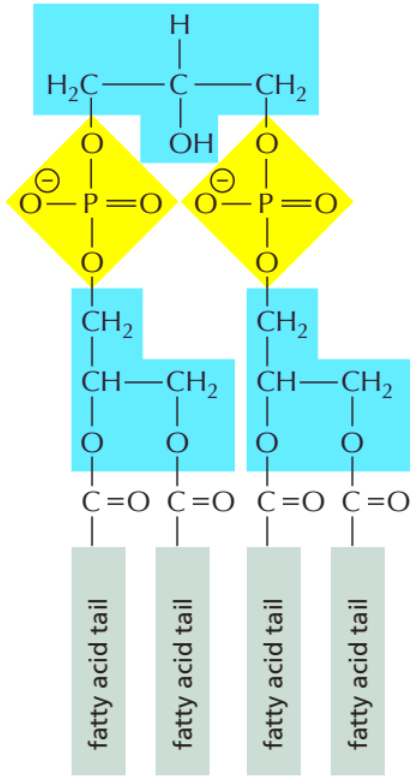
- Sitio de unión a ADP hacia el espacio intermembrana
- Sitio de unión de ATP hacia la matriz

Fosfolípidos en las membranas mitocondriales



Cardiolipina

- Dos fosfolípidos unidos covalentemente
- Solo se sintetiza en la membrana interna mitocondrial
- Interactúa con las proteínas de la fosforilación oxidativa y transporte de ATP

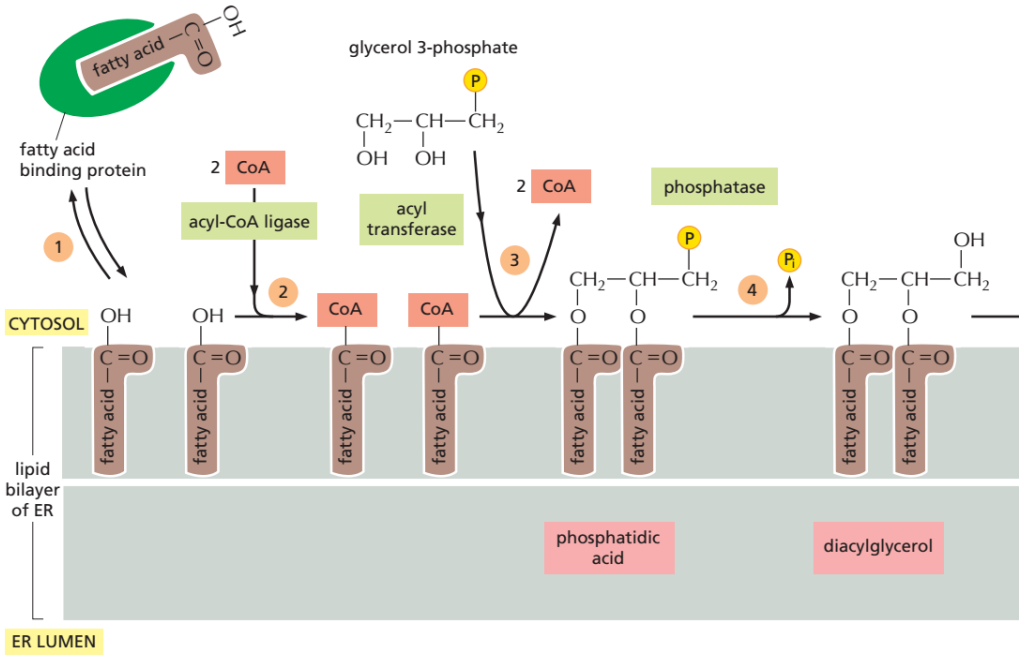


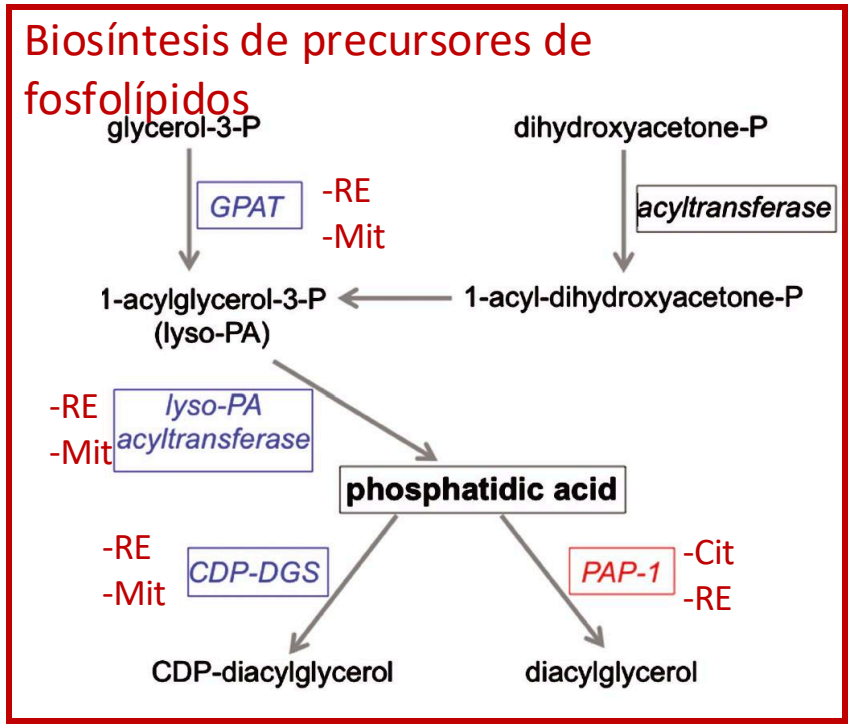
Distribución de fosfolípidos (%) entre las membranas del retículo endoplásmico (ER) y la mitocondria

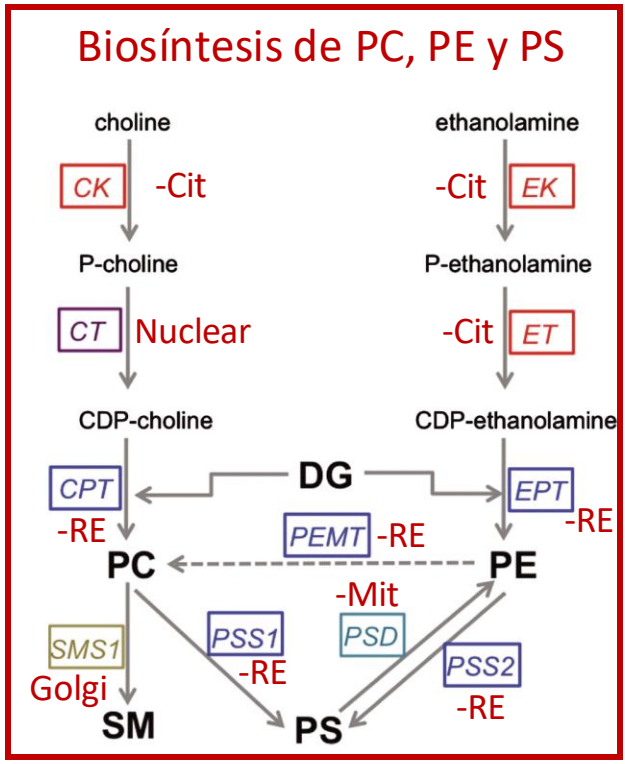
Lipid		ER	Mitochondria Inner	Mitochondria Outer
PC	fosfatidil colina	57	41	49
PE	fosfatidil etanolamina	21	38	34
SM	esfingomielina	4	2	2
PI	fosfatidil inositol	9	2	9
PS	fosfatidil serina	4	1	1
CL	cardiolipina	0	16	5

- Algunos fosfolípidos como fosfatidiserina (PS) y fosfatidilcolina (PC) se intercambian entre el retículo endoplásmico y la mitocondria
- Fosfatidiletanolamina (PE) se sintetiza en el retículo endoplásmico y en la mitocondria a partir de fosfatidilserina (PS)

Sintesis de fosfolípidos compartida entre el retículo endoplásmico y la mitocondria



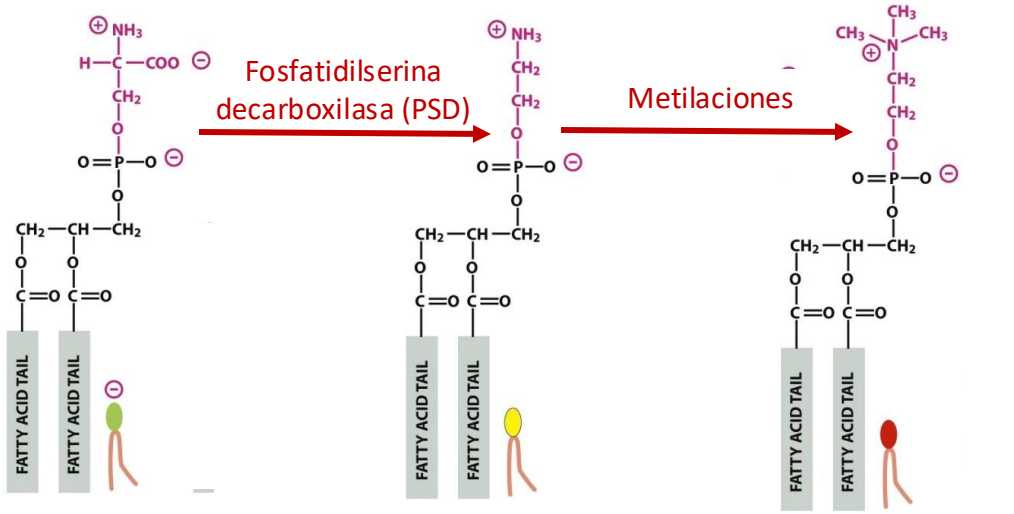




Fosfatidilserina (PS)

Fosfatidiletanolamina (PE)

Fosfatidil colina (PC)



Localización de las enzimas

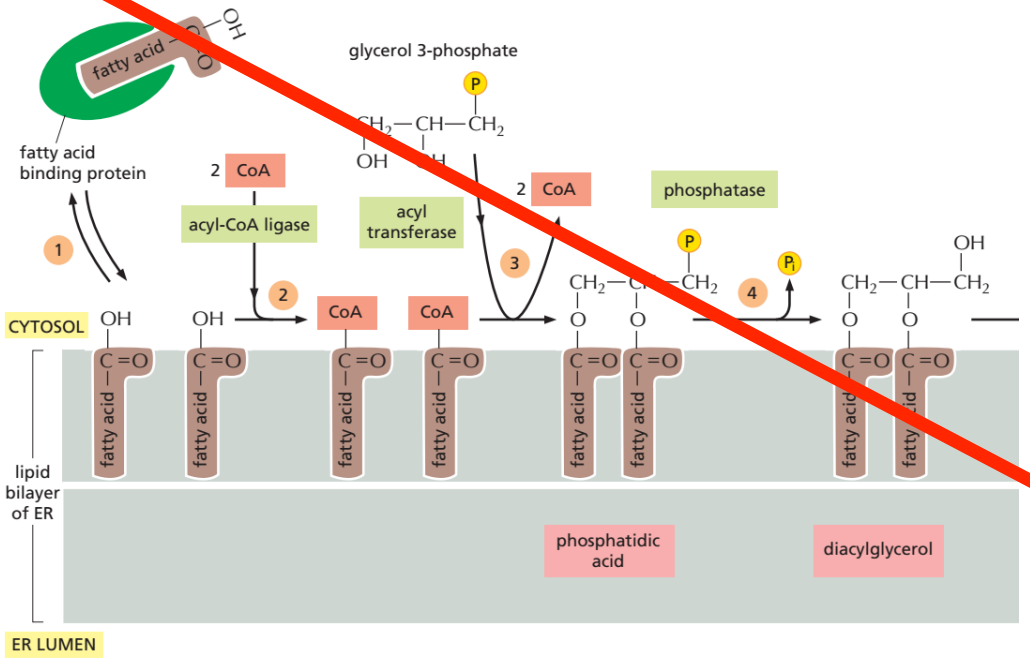
RE: Retículo endoplásmico

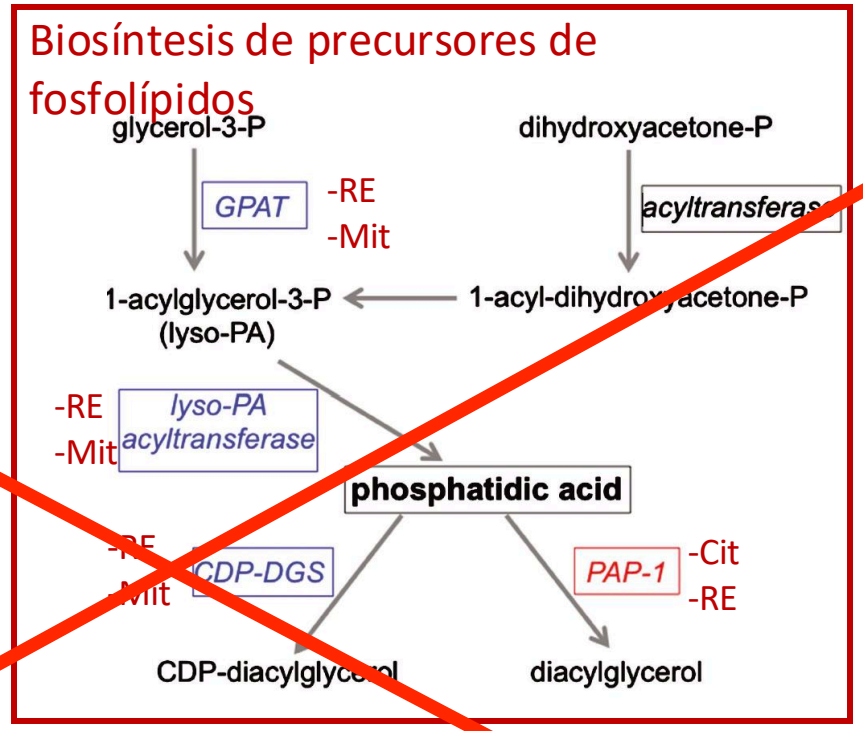
Mit: Mitocondria

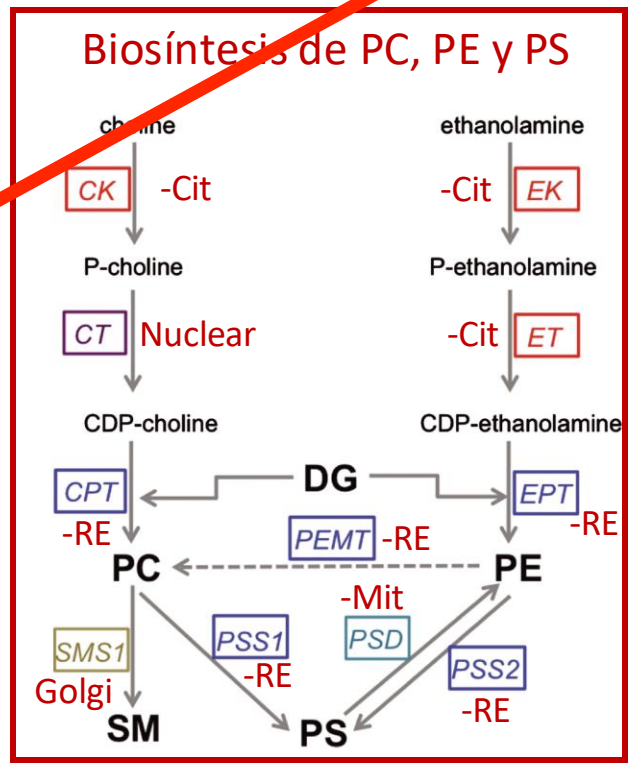
Cit: Citosol

Indica qué fosfolípidos pueden ser sintetizados en RE o mitocondrias

Sintesis de fosfolípidos compartida entre el retículo endoplásmico y la mitocondria



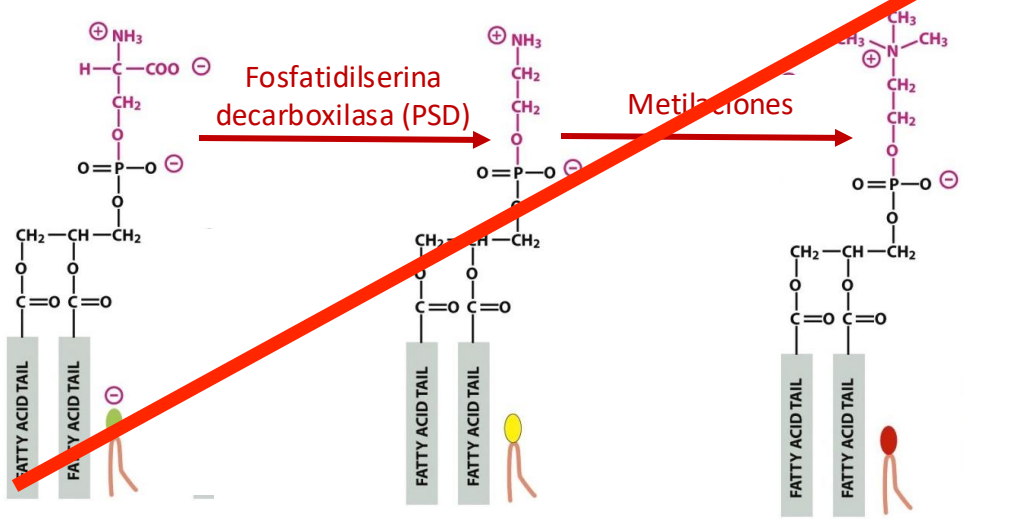




Fosfatidilserina (PS)

Fosfatidiletanolamina (PE)

Fosfatidil colina (PC)



Localización de las enzimas

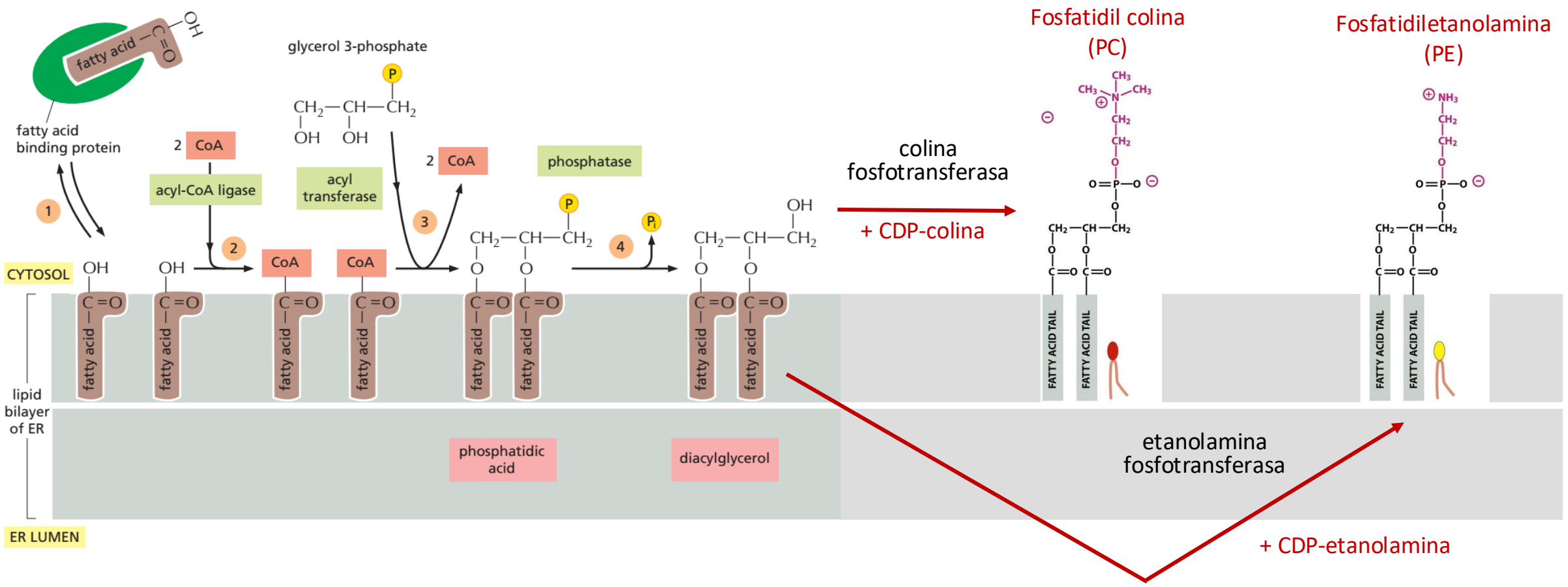
RE: Retículo endoplásmico

Mit: Mitocondria

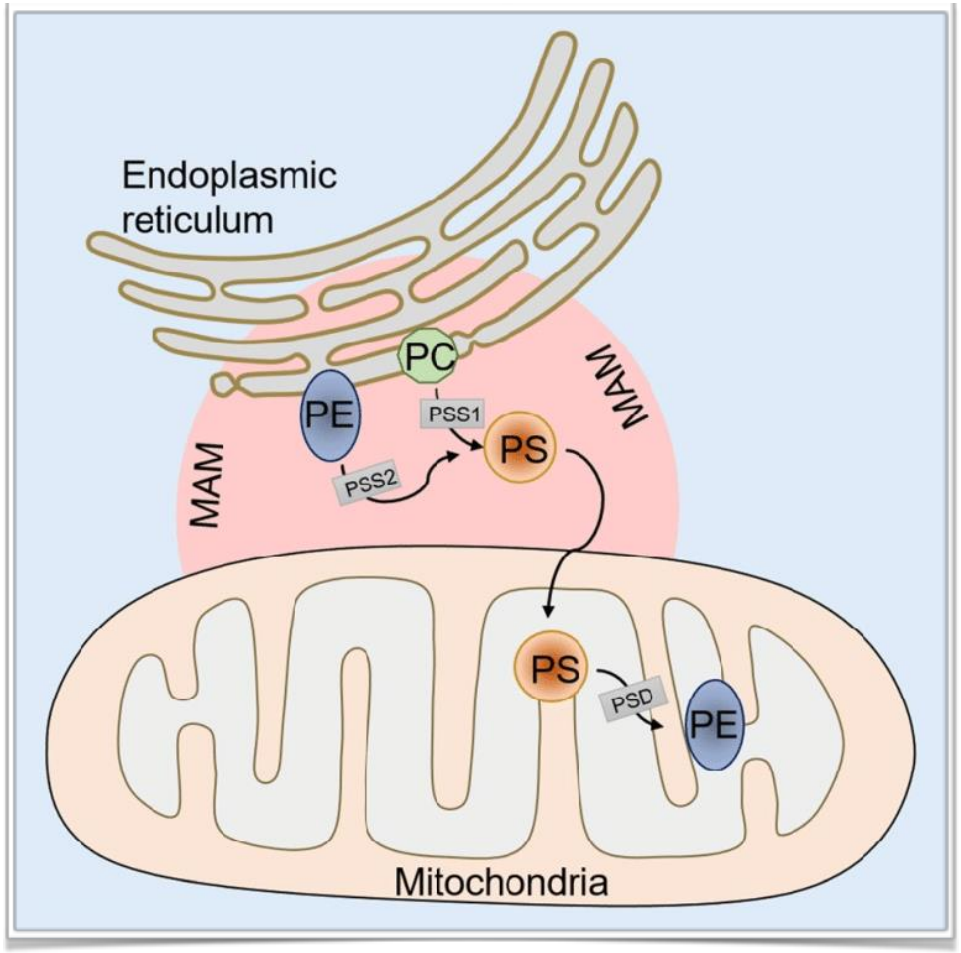
Cit: Citosol

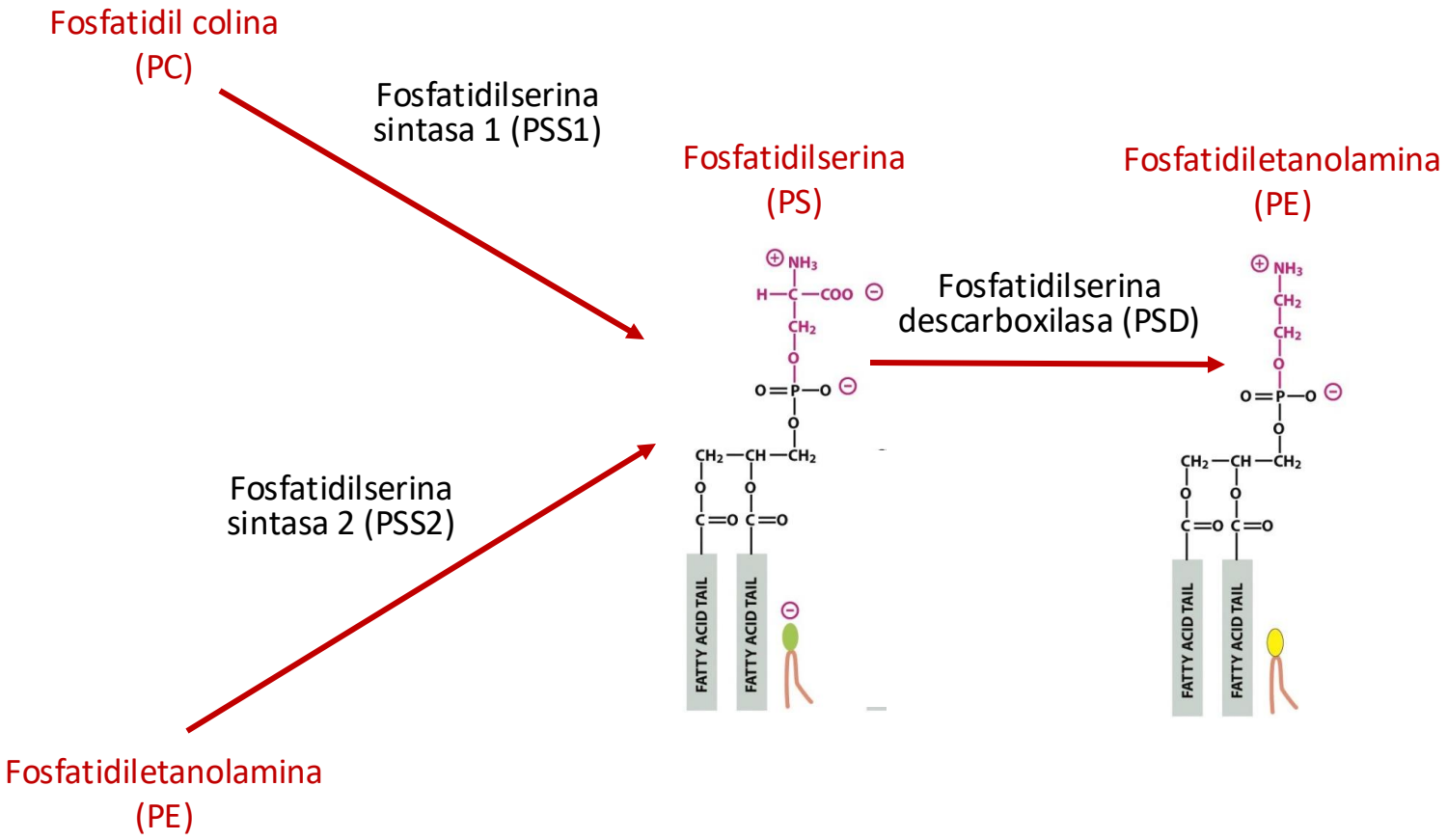
Indica qué fosfolípidos pueden ser sintetizados en RE o mitocondrias

Sintesis de fosfolípidos compartida entre el retículo endoplásmico y la mitocondria

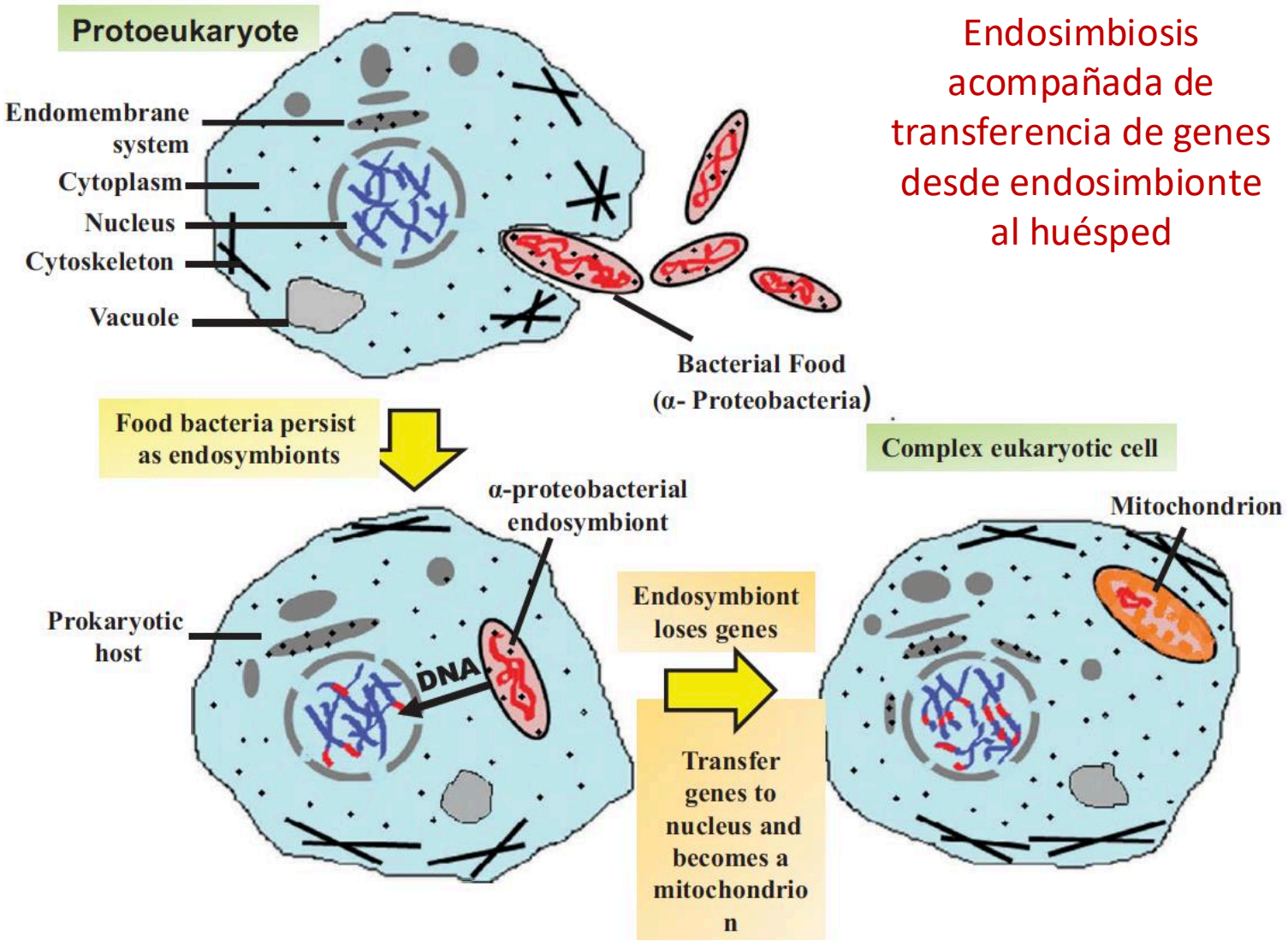


Sintesis de fosfolípidos compartida entre el retículo endoplásmico y la mitocondria

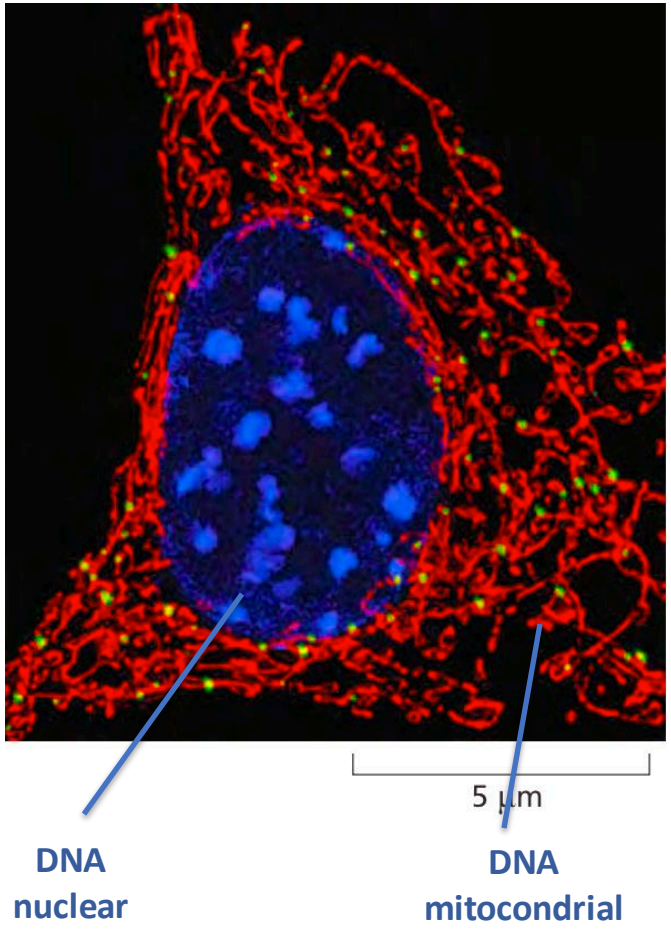




Origen de la mitocondria por endo-simbiosis y transferencia de genes

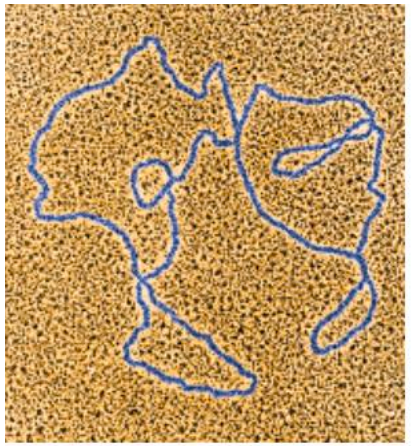


Endosimbiosis acompañada de transferencia de genes desde endosimbionte al huésped



El DNA mitocondrial es menos del 1% del DNA total de la célula

ADN mitocondrial



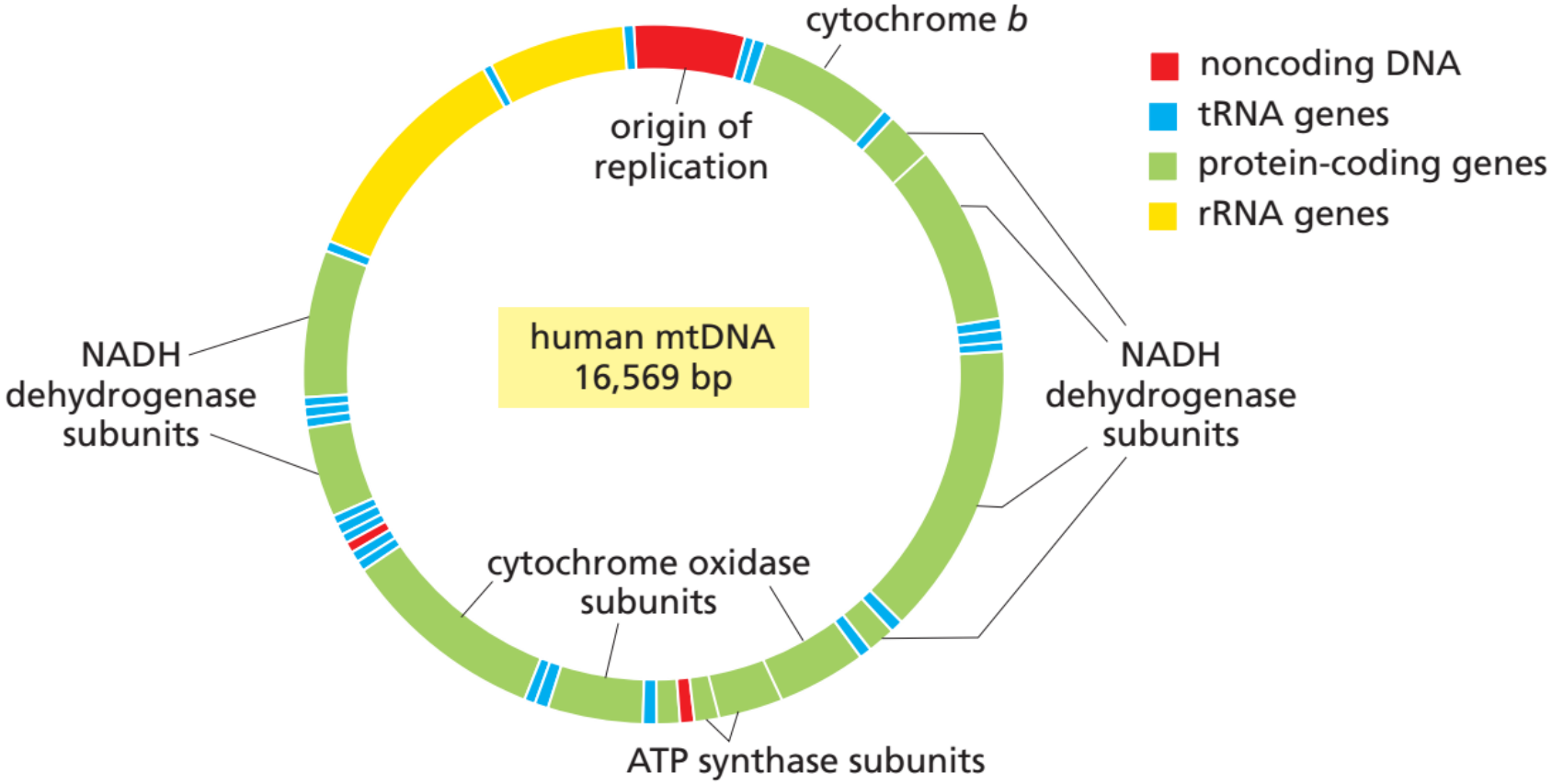
El ADN mitocondrial es una doble hebra en círculo cerrado, sin proteínas cromosomales

ADN mitocondrial

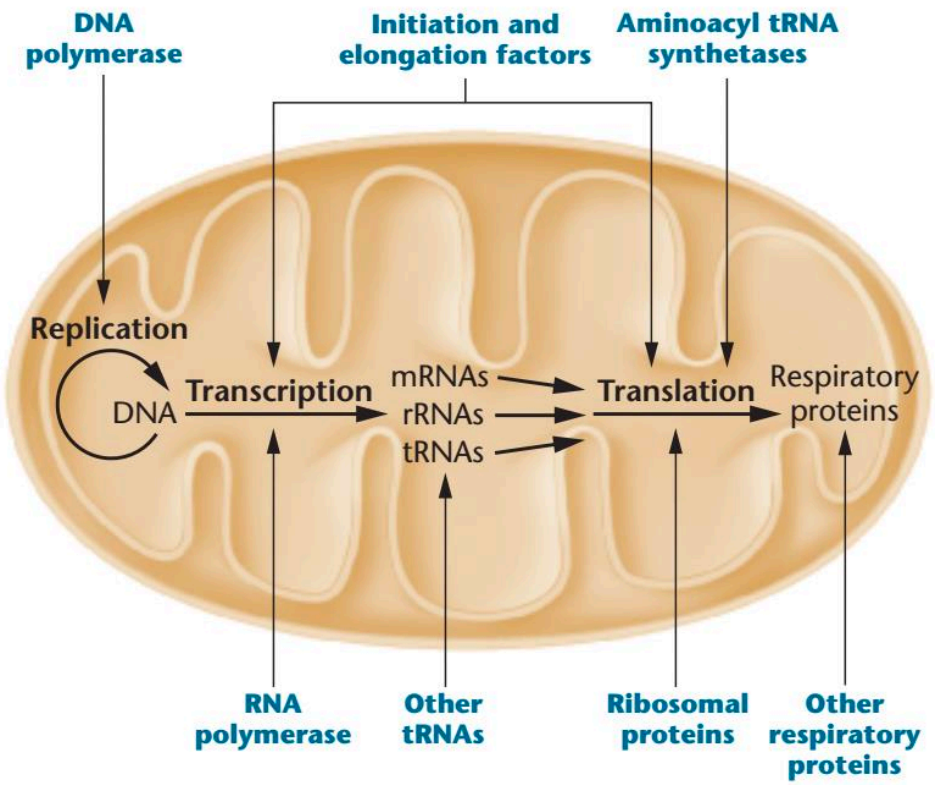
- 16.569 pares de bases
- 37 genes necesarios para la producción energética

Genes mitocondriales

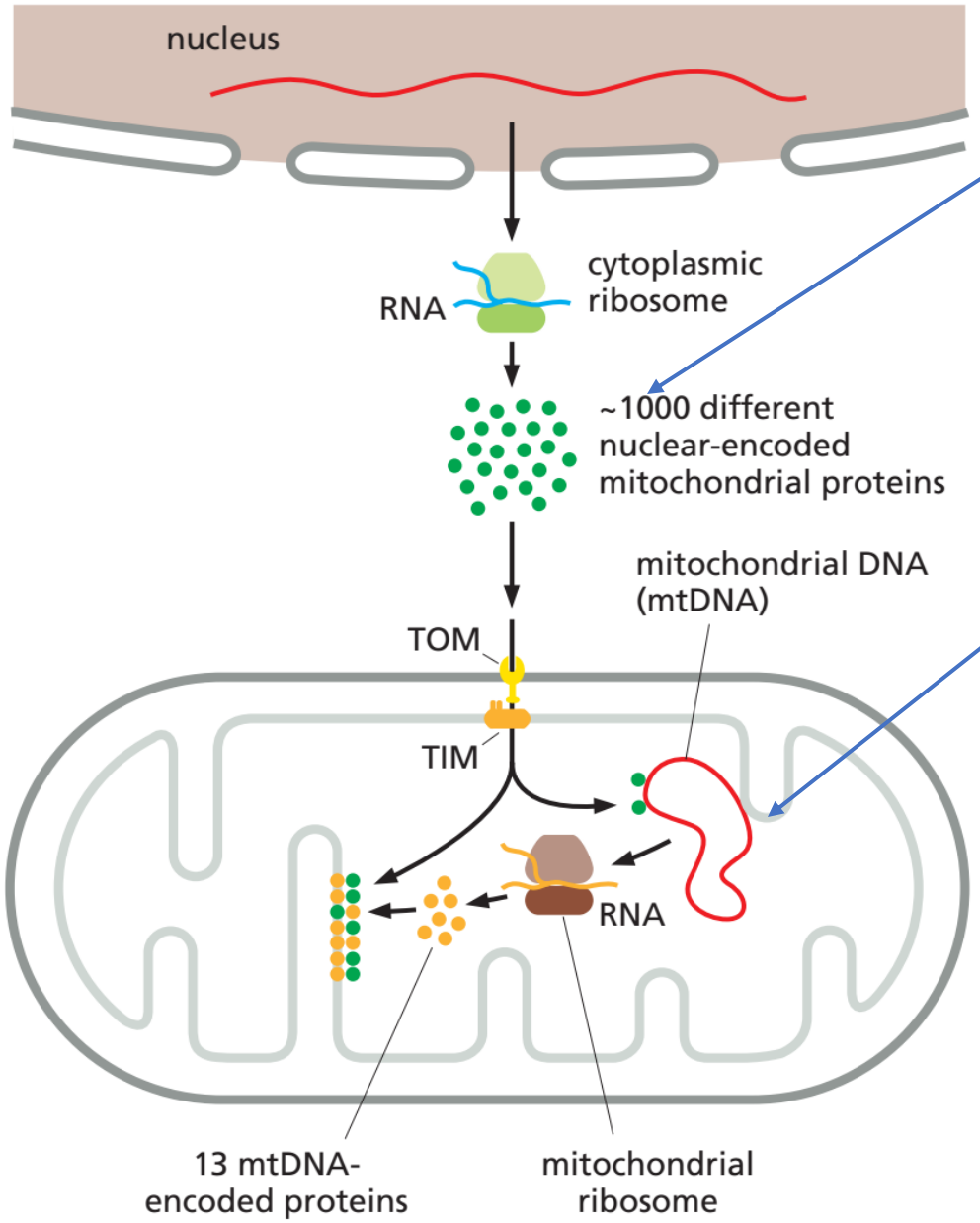
- 13 proteínas de las subunidades del complejo cadena transportadora de electrones
- 22 ARNs de transferencia
- 2 ARNs ribosomales



Componentes mitocondriales codificados en genes nucleares o mitocondriales



Etapas en la expresión de proteínas mitocondriales



Todas las proteínas de los ribosomas mitocondriales están codificadas en el ADN nuclear

La mayoría de las proteínas que funcionan en la mitocondria son codificadas por genes nucleares

- ADN y ARN polimerasas
- Factores de inicio y elongación de la traducción
- Proteínas ribosomales
- Aminoacil tRNA sintetasas
- Varios tRNAs

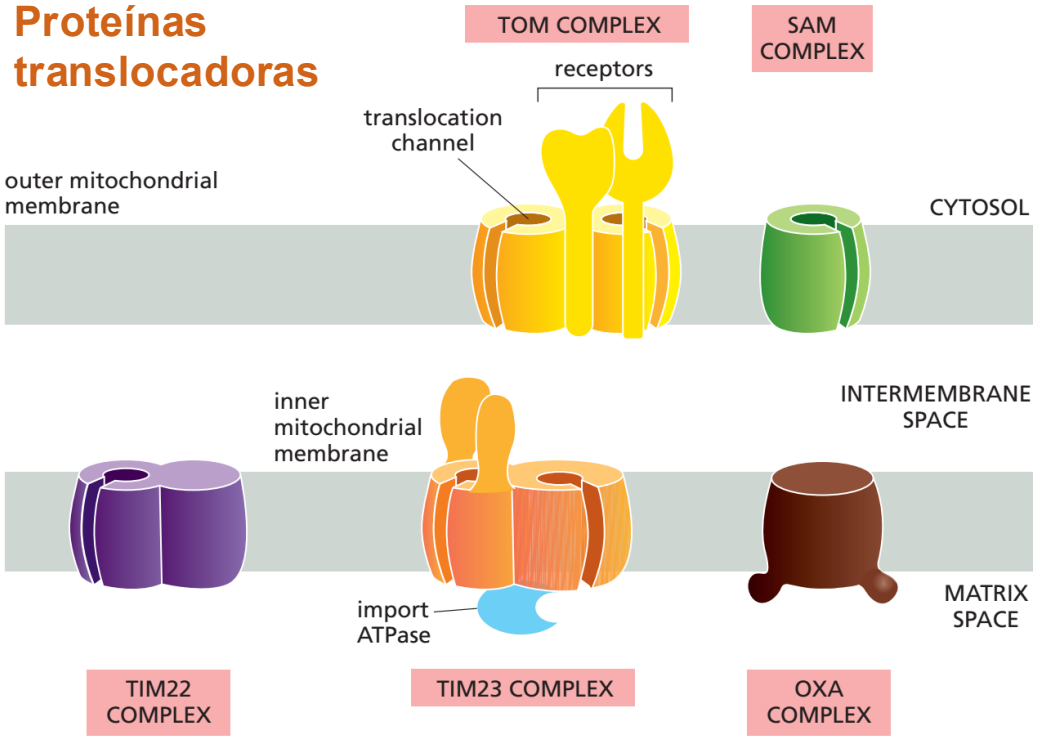
Genoma mitocondrial

- 13 proteínas de la cadena transportadora de electrones
- 2 RNAs ribosomales
- 22 RNAs de transferencia

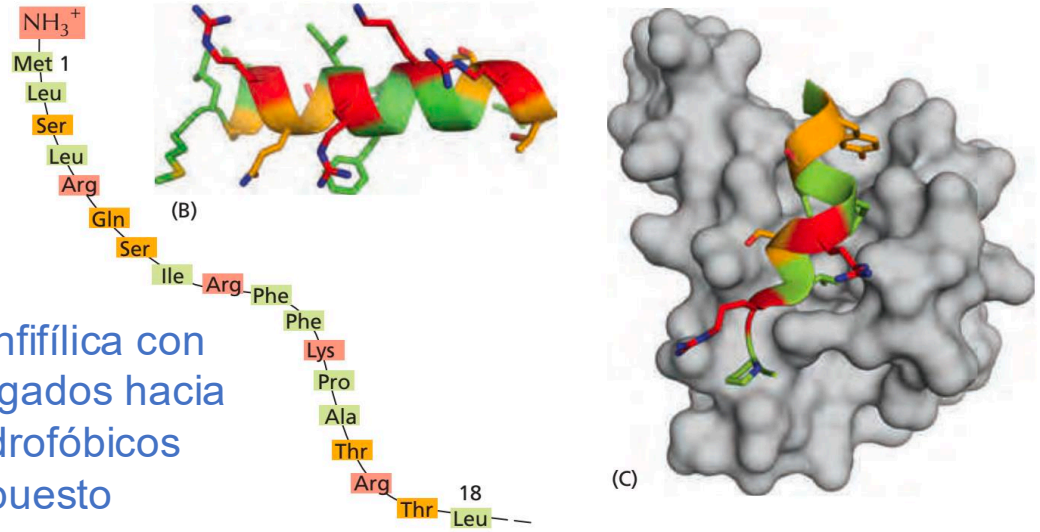
Genes nucleares y mitocondriales en conjunto codifican a las moléculas de los aparatos de síntesis de proteína y de la respiración celular

Importación de proteínas a la mitocondria

Proteínas translocadoras

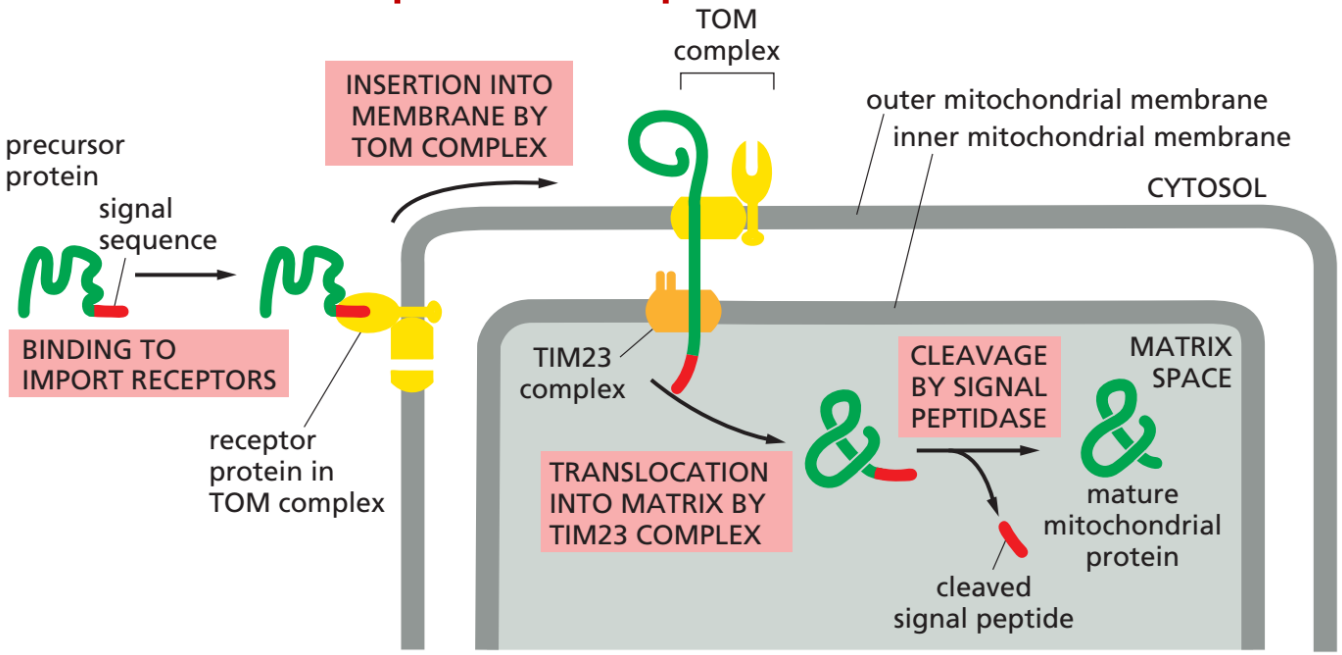


Péptido señal de proteínas de la matriz



alfa helice anfifílica con residuos cargados hacia un lado e hidrofóbicos en el lado opuesto

Importación de proteínas de la matriz



Proceso post-traduccional

- Chaperonas mantienen desplegada la proteína
- Péptido señal específico removible o permanente dependiendo de la proteína
- Receptor del péptido señal
- Sistema translocador
- TOM y SAM (membrana externa)
- Tim22, Tim23, Oxa (membrana interna)

Funciones de los complejos translocadores de proteínas a la mitocondria

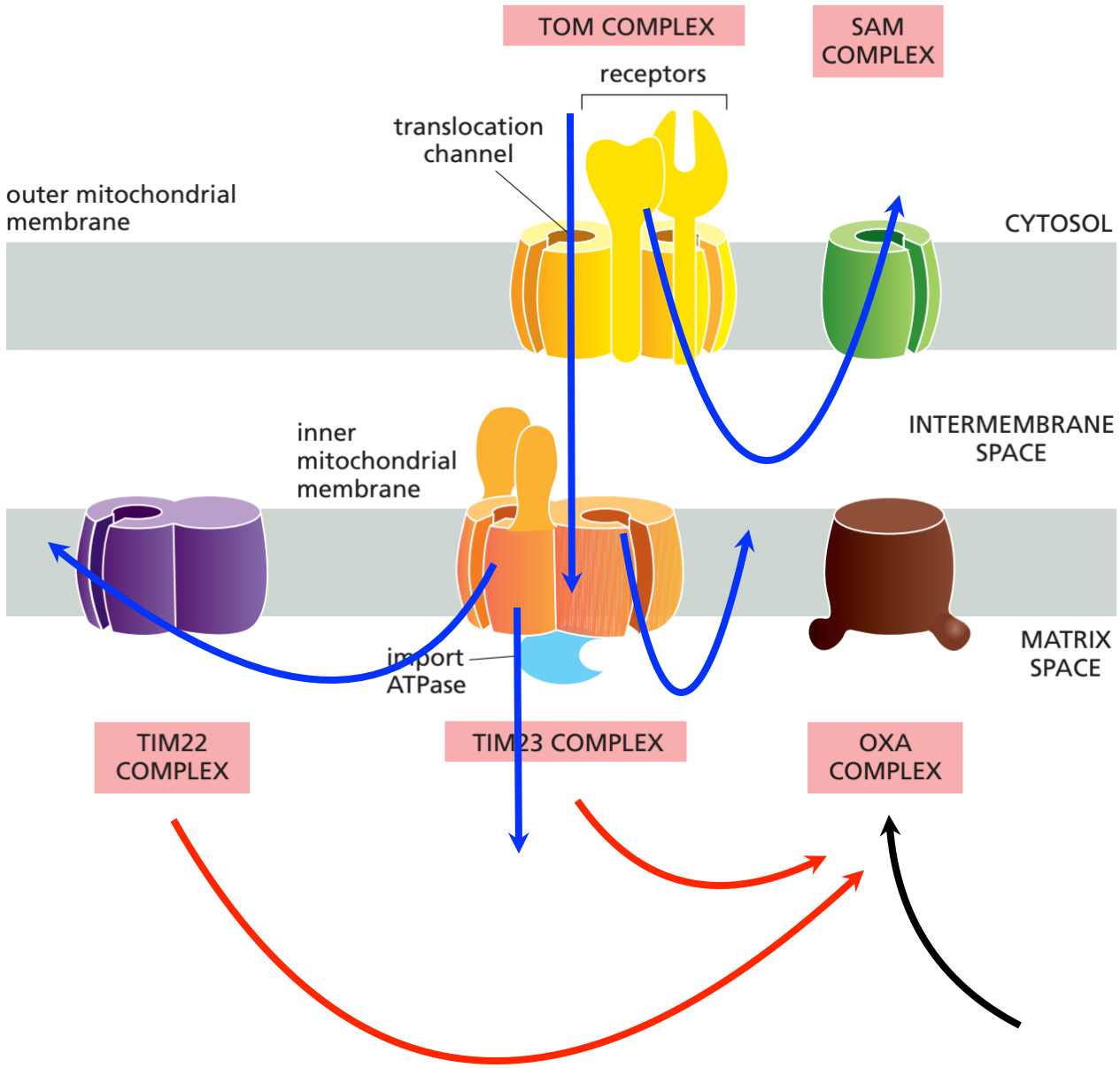
TOM transfiere proteínas a través de la membrana externa y ayuda a insertar proteínas en la membrana interna. Importación de todas las proteínas mitocondriales codificadas en el ADN nuclear

SAM inserta proteínas en la membrana externa después que han entrado por TOM al espacio intermembrana

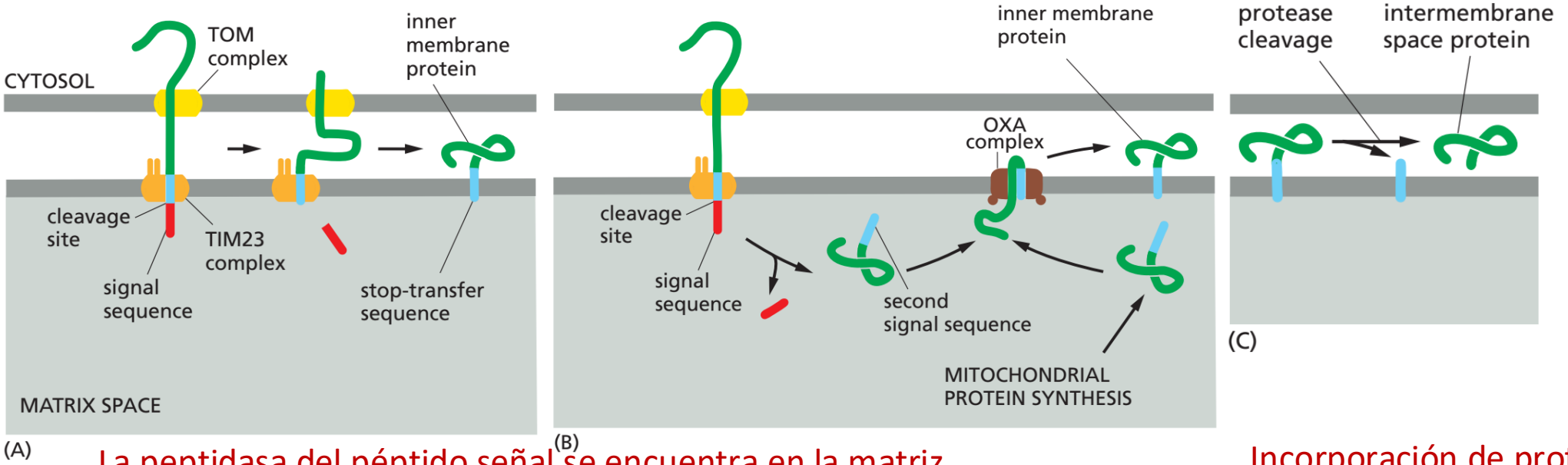
TIM23 traspasa ciertas proteínas solubles a la matriz y contribuye a insertar proteínas en la membrana interna

TIM22 inserta un subconjunto de proteínas en la membrana interna

OXA inserta en la membrana interna proteínas sintetizadas en la mitocondria y también proteínas importadas inicialmente a la matriz por los otros complejos



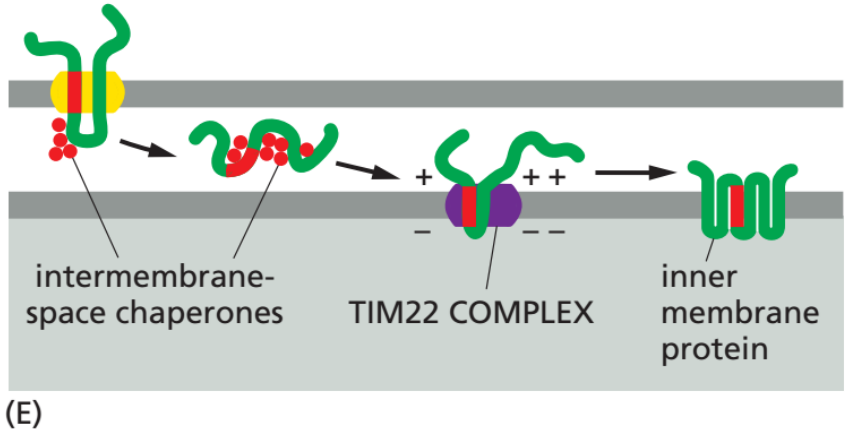
Importación de proteínas a la mitocondria

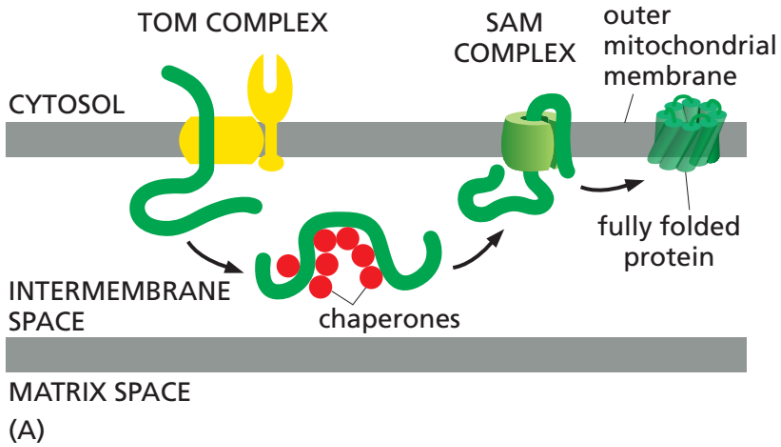


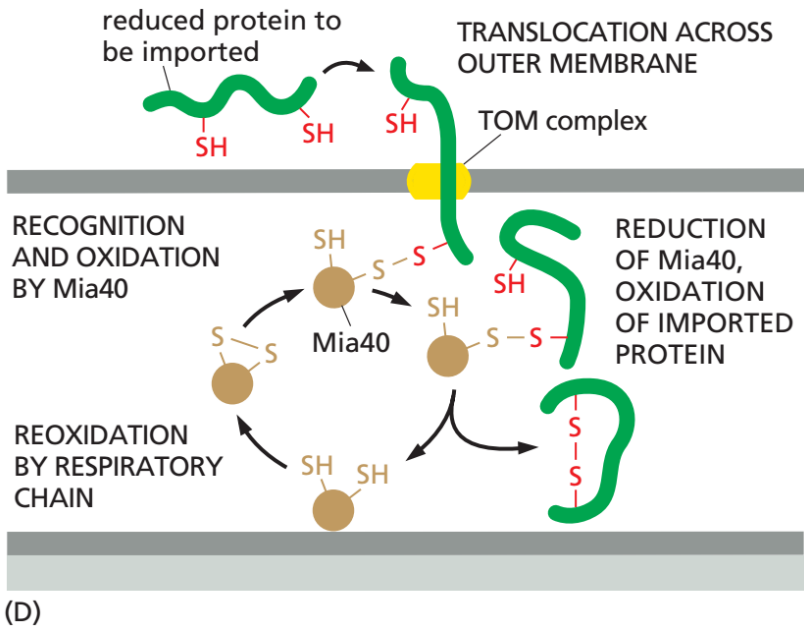
La peptidasa del péptido señal se encuentra en la matriz

Incorporación de proteínas con puentes disulfuro

Proteínas que entran al espacio intermembranas desde el exterior pueden ser translocadas hacia la membrana interna por TIM22 o la membrana externa por SAM

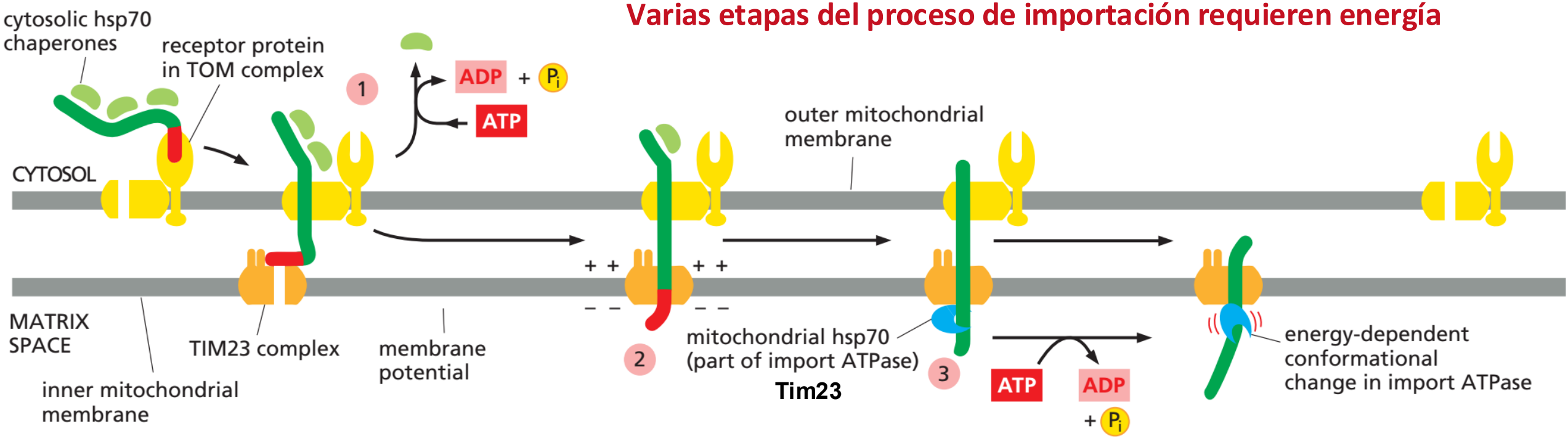






Función de la energía en la importación de proteínas a la mitocondria

Varias etapas del proceso de importación requieren energía



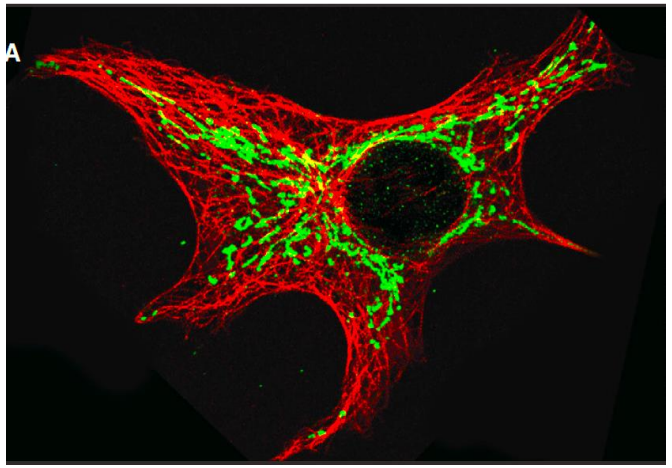
La chaperona HSP70 se une a la proteína mitocondrial precursora en el citosol, la libera consumiento ATP después que el péptido señal es reconocido por su receptor en el complejo TOM. La proteína empieza su translocación

La sequencia señal es translocada hacia la matriz a través de la membrana interna requiriendo el potencial de membrana

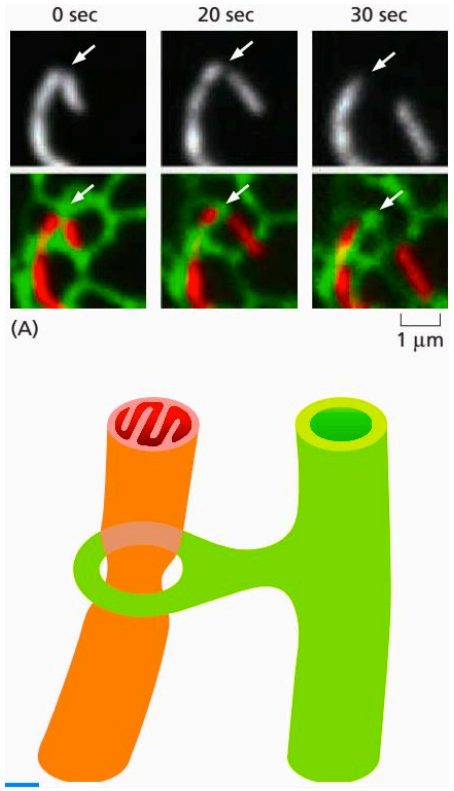
La chaperona hsp70 mitocondrial es parte de una ATPasa que promueve la translocación desde la matriz requiriendo hidrólisis de ATP

Dinámica mitocondrial

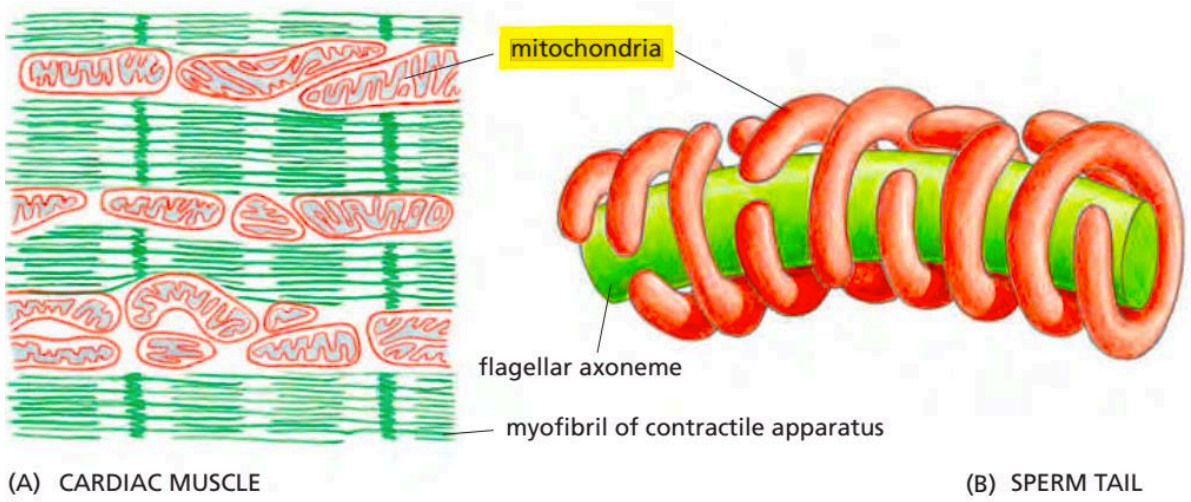
Mitocondrias tienden a alinearse y moverse con **microtúbulos**



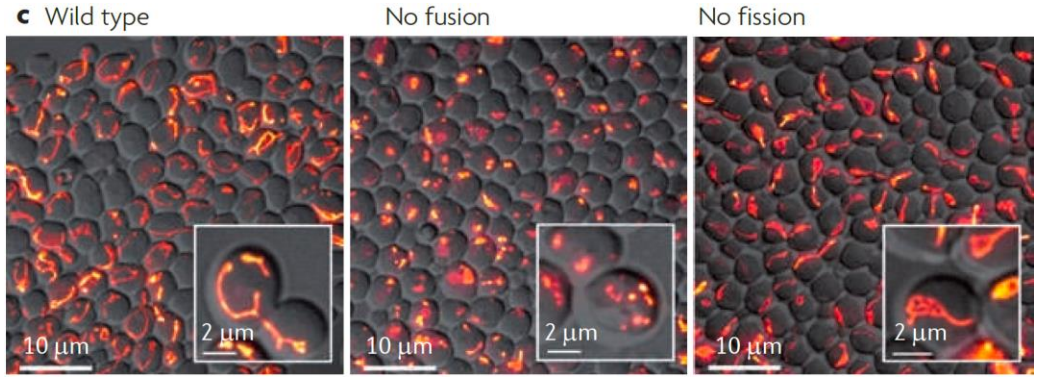
Mitocondrias interactúan con el retículo endoplásmico en la síntesis de fosfolípidos y fisión mitocondrial



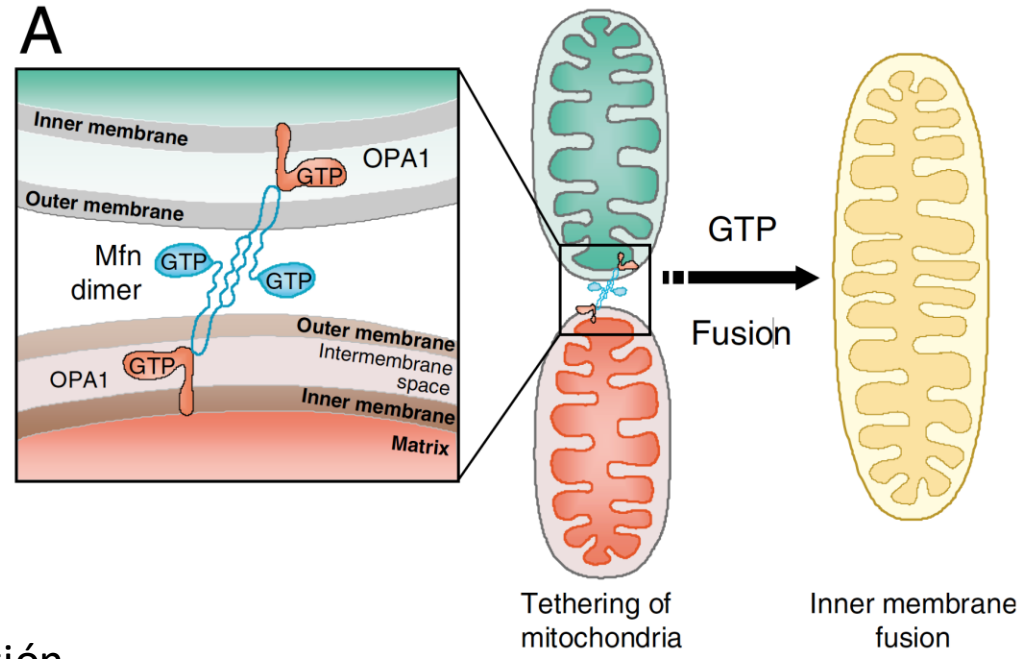
Mitocondrias se concentran en sitios de alto requerimiento energético



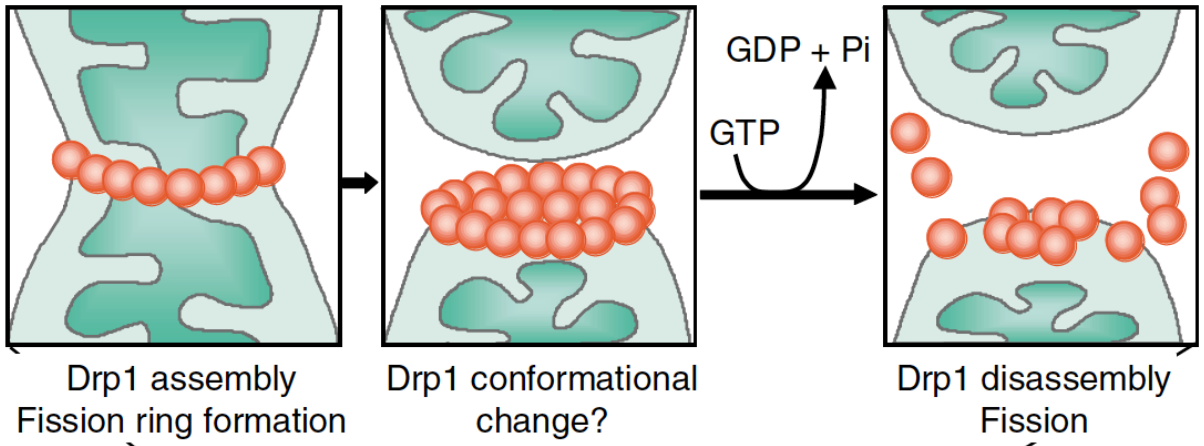
Mitocondrias se fusionan y fisionan constantemente y esto puede ser regulado



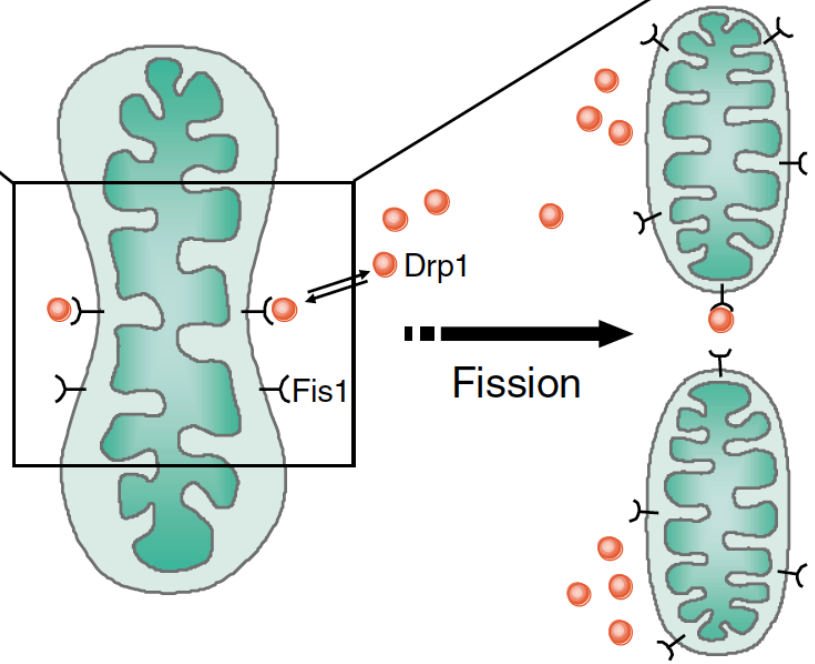
Fusión y fisión mitocondrial mediada por GTPasas



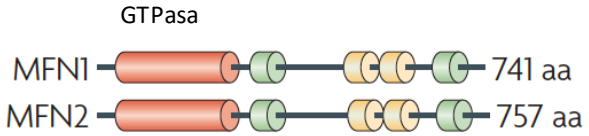
Hidrólisis del GTP provee energía para la fisión

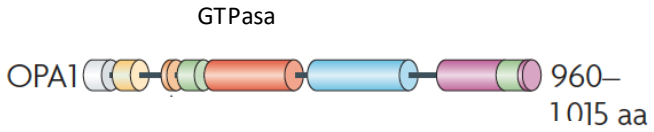


Drp1 es de la familia de la Dinamina, forma un anillo constrictor

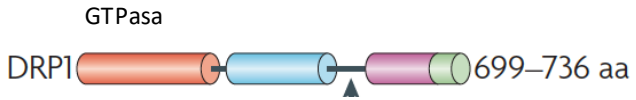


Fusión

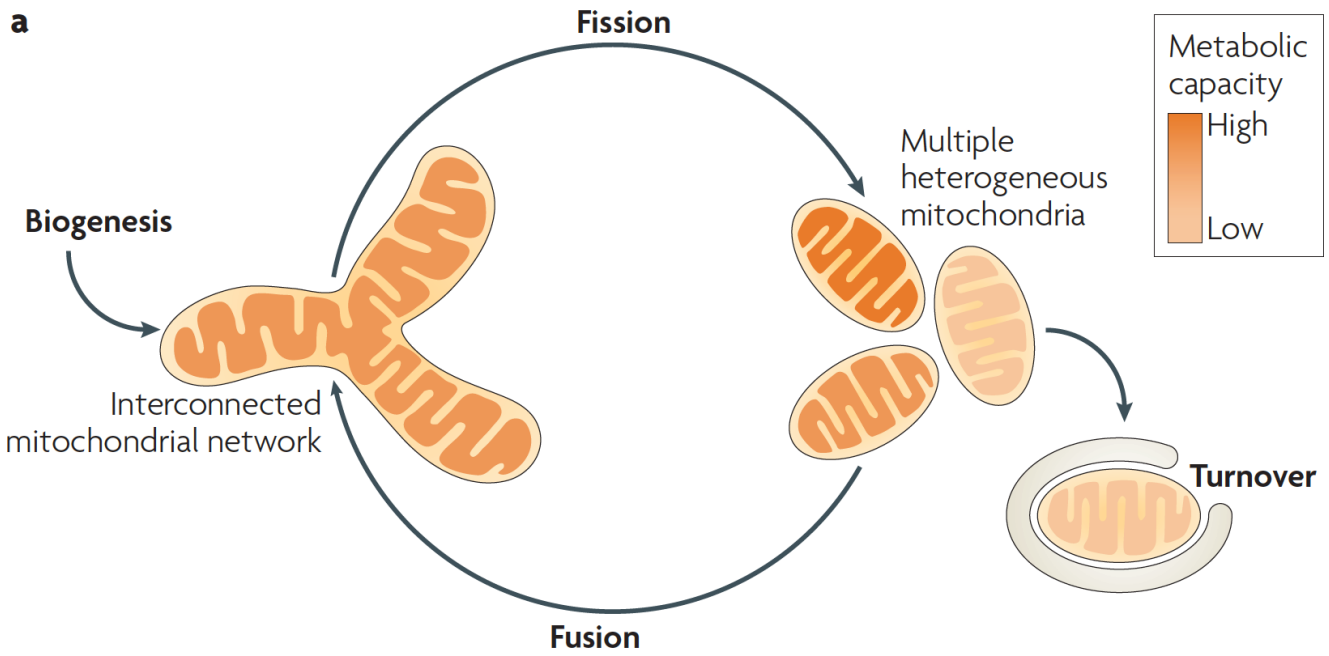




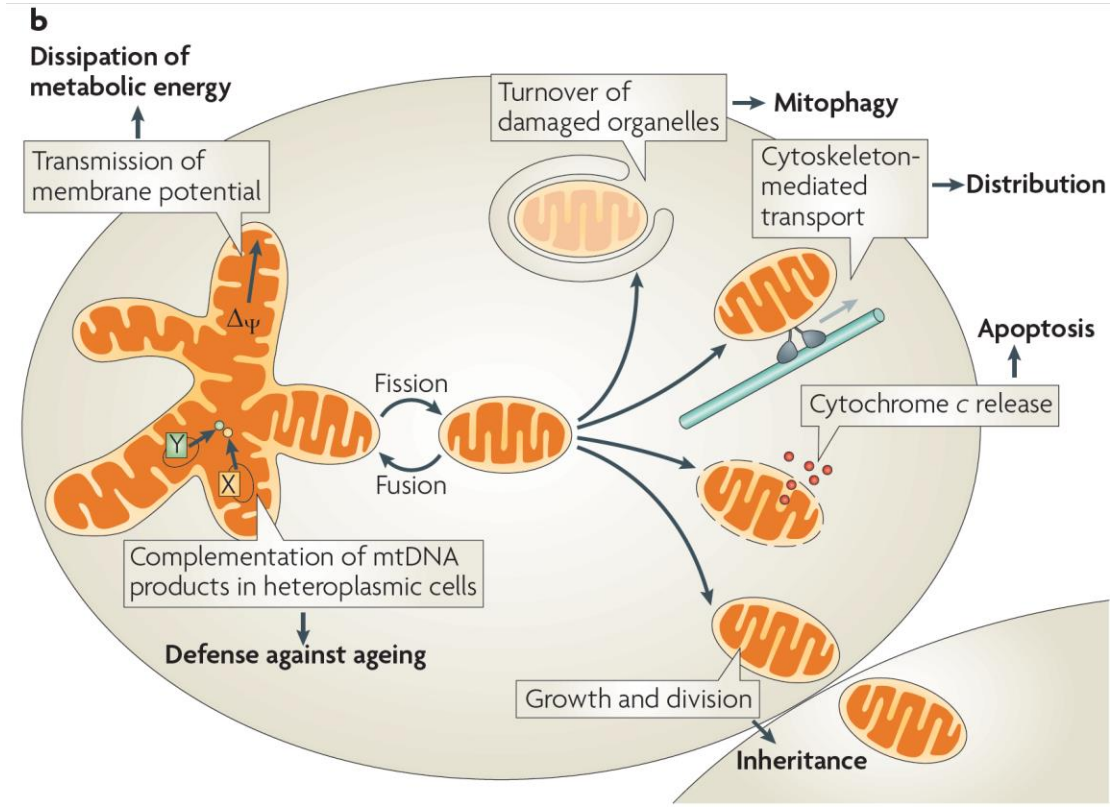
Fisión



Funciones de la fusión y fisión mitocondrial



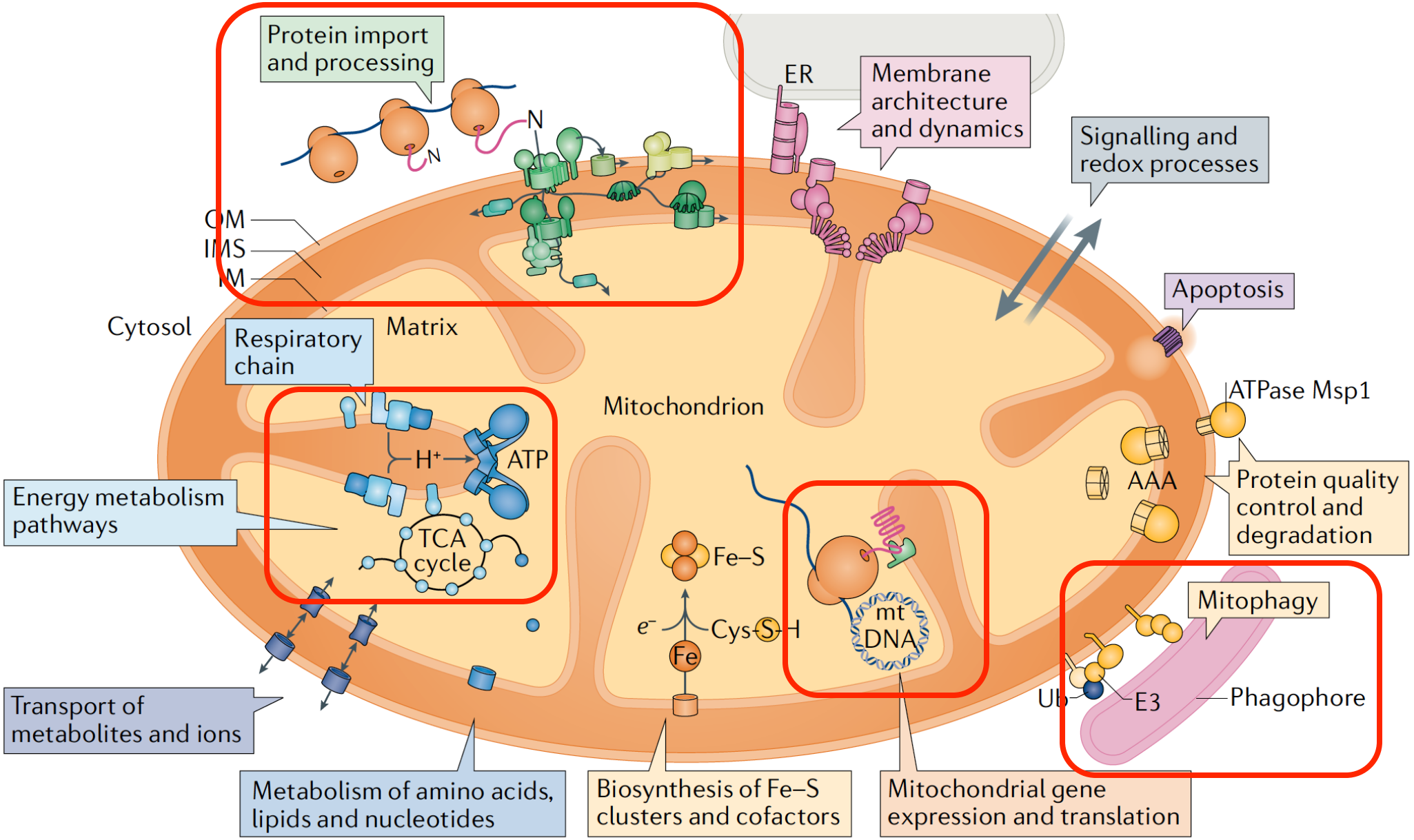
- La división puede generar mitocondrias sin DNA, el cual se recupera al fusionarse
- La fusión puede compensar mutaciones en el DNA



Alteraciones en la dinámica mitocondrial tiene repercusiones en neuronas

Table 2 | **Human diseases associated with perturbations of mitochondrial dynamics**

Molecular defect	Disease	Neuronal defect	Refs
Mutations in *OPA1* that impede mitochondrial fusion	Autosomal dominant optic atrophy	Degeneration of retinal ganglion cells and optic nerve	111,112
Mutations in *MFN2* that impede mitochondrial fusion	Charcot–Marie–Tooth disease type 2a	Degeneration of long peripheral sensory and motor neurons	113
Mutations in *DRP1* that impede mitochondrial fission	Unnamed	Abnormal brain development, optic atrophy and neonatal lethality	114
Mutations in *PINK1* or *PARK2* that disturb mitochondrial dynamics	Hereditary early onset Parkinson's disease	Degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra	117–120

DRP1, dynamin-related protein 1; *MFN2*, mitofusin 2; *OPA1*, optic atrophy protein 1; *PARK2*, Parkin.

Resumen de mitocondria y sus funciones